

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PRISCILA BIANCA BORGHI FERRARI

**ESTUDO DE ADITIVOS PARA AUMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO
BIODIESEL**

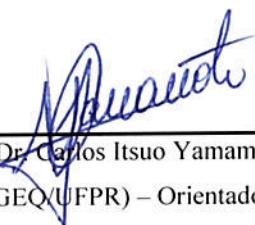
CURITIBA

2012

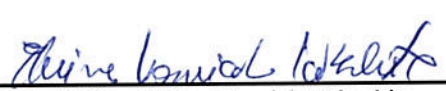
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos vinte e nove dias do mês de agosto de 2012, no Auditório Superior do Prédio de Engenharia Química no Centro Politécnico – UFPR foi instalada pelo Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto, professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, a Banca Examinadora para a quadragésima primeira defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos. Estiveram presentes no ato somente a pós-graduanda e os membros da banca examinadora de acordo com o parágrafo 3º do artigo 66º da Resolução 65/09 – CEPE/UFPR. A Banca Examinadora, atendendo a determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, foi constituída pelos professores doutores: Carlos Itsuo Yamamoto (PPGEQ/UFPR), Profª. Dra. Elaine Vosniak Takeshita (PPGEQ/UFPR), Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich (PPGQ/UFPR) e Prof. Dr. Edésio Luiz Simionatto (FURB/SC). Às 14h30min, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata **Priscila Bianca Borgi Ferrari** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada *“Estudo de Aditivos para Aumento da Estabilidade Oxidativa do Biodiesel”*. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela APROVAÇÃO da candidata, (de acordo com a determinação dos artigos 68º e 69º da Resolução 65/09 – CEPE/UFPR de 30.10.2009).

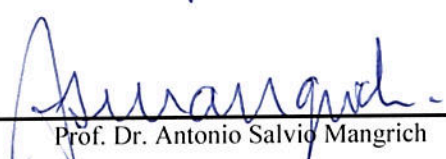
Curitiba, 29 de agosto de 2012.



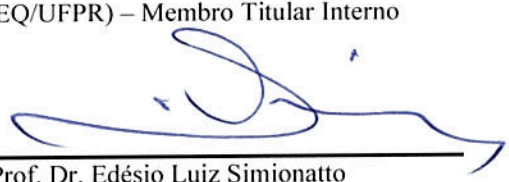
Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto
(PPGEQ/UFPR) – Orientador



Profª. Dra. Elaine Vosniak Takeshita
(PPGEQ/UFPR) – Membro Titular Interno



Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich
(PPGQ/UFPR) – Membro Titular Externo



Prof. Dr. Edésio Luiz Simionatto
(FURB/SC) – Membro Titular Externo

PRISCILA BIANCA BORGHI FERRARI

**ESTUDO DE ADITIVOS PARA AUMENTO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO
BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como parte integrante das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto
Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Salvio Mangrich

CURITIBA

2012

Ferrari, Priscila Bianca Borgi

Estudo de aditivos para aumento da estabilidade oxidativa do
Biodiesel / Priscila Bianca Borgi Ferrari . – Curitiba, 2012
94 f. : il.; grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Carlos Itsuo Yamamoto

Coorientador: Antônio Salvio Mangrich

1. Biodiesel . 2. Oxidação. 3. Antioxidantes. I. Yamamoto, Carlos
Itsuo. II. Mangrich, Antônio Salvio. III. Título

CDD 665.3

Ao meu pai José Pedro (*in memoriam*) e à minha mãe Latif, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que se doaram inteiros e muitas vezes renunciaram aos seus sonhos para que pudesse realizar os meus. E à minha Vó Didi (*in memoriam*), que mesmo longe, esteve e sempre estará ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e amor incalculável.

Ao Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto pela oportunidade, orientação, incentivos, confiança e pela sua amizade durante todo o decorrer deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Salvio Mangrich pela co-orientação, inestimável dedicação, determinação, atenção, acolhida e pelo incentivo no término deste trabalho.

À minha família, principalmente à minha mãe, Latif, pelo inestimável amor, compreensão e apoio nos momentos difíceis.

Aos meus amigos Gi, Lincoln, Lu, Maria, Paula e Rodrigo, pela amizade sincera, apoio e longas conversas, ajudando-me sempre a manter o bom humor.

Às minhas amigas de longa data Anna, Heloisa, Jacqueline, Mariane e Stefany, que mesmo distantes estão presentes em minha vida.

Aos amigos de pós-graduação que compartilharam comigo muitos momentos durante todo o decorrer deste trabalho, me apoiaram e incentivaram, sempre com um sorriso e uma palavra amiga.

Às amigas e companheiras de laboratório, Liliam, Estela e Laiéli, que me acolheram com muito carinho e amizade, e principalmente pelas risadas, tão importantes pra se superar os problemas encontrados no caminho. E ao Fábio, pela paciência e ajuda nas horas de desespero.

Ao Prof. Dr. Ronny Rocha Ribeiro pelo apoio e ajuda na realização dos ensaios em EPR e ao Prof. Dr. Otaciro Rangel pelo auxílio e inspiração.

Aos funcionários do LACAUT que me acolheram e estiveram sempre dispostos a me ajudar, tanto na parte técnica quanto na parte burocrática, em especial à Márcia, pelo apoio, paciência e empenho no auxílio para a realização das análises.

Ao LACAUT e LABPPAM pelo suporte, disponibilização de equipamentos, espaço e material para a execução deste projeto.

Ao prof. Dr. Vitor Francisco Ferreira e ao Dr. Alessandro Kappel Jordão do Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense, pelo fornecimento dos compostos utilizados neste trabalho.

Aos Professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná.

A Universidade Federal do Paraná, por ter me apoiado e ter sido minha casa durante estes anos.

A CAPES/REUNI, pelo auxílio financeiro.

"Crê em ti mesmo, age e verá os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar."

Chico Xavier

"O merecimento de cada um está na proporção do sacrifício que se impõe a si mesmo."

Evangelho Segundo o Espiritismo (Cap. XVI, 13)

RESUMO

Devido à presença de ácidos graxos, com insaturações não conjugadas nos óleos utilizados como matéria prima para produção de biodiesel, os produtos obtidos estão sujeitos a sofrer oxidação, gerando subprodutos causadores de danos por corrosão ou formação de depósitos insolúveis em tanques de armazenamento e motores. O objetivo deste estudo foi identificar entre 18 substâncias sintéticas, radicais livres orgânicos, aquelas que adicionadas ao biodiesel sejam capazes de minimizar as reações de oxidação, impedindo o início, ou antecipando o término das reações de oxidação, sem afetar as outras características do biocombustível. Para identificar e caracterizar qualitativa e quantitativamente esses possíveis compostos antioxidantes utilizou-se a espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), que é capaz de detectar espécies contendo elétrons desemparelhados (radicais livres). Para comparação e confirmação dos dados obtidos por EPR foi utilizado o método por UV-VIS baseado na extinção do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância em 515 nm. Nos testes com EPR todas as substâncias se mostraram muito eficientes no consumo do DPPH•, algumas consumiram-no em menor tempo e mais eficientemente que outras. Confirmando os resultados obtidos nos testes com EPR, nos testes em UV-Vis todas apresentaram comportamento antioxidante, mostrando também variações na eficiência no consumo do DPPH• assim como no tempo necessário para isso. As que apresentaram atividade antioxidante nos testes em UV-Vis coincidem com aquelas que consumiram mais rapidamente o DPPH• nos testes com EPR, confirmando a eficiência do método. Essas redoxomas que apresentaram os melhores resultados em ambos os testes (01, 17, 18 e 19) foram dissolvidas em N-butildietanolamina (BDEA) e adicionadas ao biodiesel. Esse biodiesel aditivado foi analisado com a finalidade de determinar a sua estabilidade oxidativa de acordo com o Método Rancimat (EN 14112), método padrão adotado pela ANP para essa análise. Nos testes em Rancimat todas as quatro aumentaram o tempo de estabilidade oxidativa da amostra de biodiesel, mas a que obteve o melhor desempenho foi a redoxoma 17, apresentando-se tão eficiente quanto à redoxoma 1, também conhecida por tempol (4-Hidróxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil), recentemente patenteada como antioxidante para biodiesel [73].

Palavras-chave: Biodiesel. Oxidação. Antioxidantes. EPR. Redoxomas. Estabilidade à oxidação. Rancimat.

ABSTRACT

Due to the presence of fatty acids with non-conjugated unsaturation in oils used as raw material for biodiesel production, the products obtained are prone to oxidation, generating byproducts that cause corrosion damage or formation of insoluble deposits in storage tanks and engines. The aim of this study was to identify among 18 synthetic substances, organic free radicals, those which added to biodiesel are able to minimize oxidation reactions, preventing the onset or anticipating the end of the oxidation reactions, without affecting others characteristics of biofuel. To identify and characterize qualitatively and quantitatively these possible antioxidant compounds it was used the electronic paramagnetic resonance (EPR), which is able to detect species containing unpaired electrons (free radicals). For comparison and confirmation of the data obtained by EPR method, the UV-VIS method was used based on the extinguishing of DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) by antioxidants, producing a decrease in absorbance at 515 nm. EPR tests with all substances were very efficient in the consumption of DPPH •, some consumed it in quickly and more efficiently than others. In agreement with results obtained in tests in UV-VIS, all of them showed antioxidant behavior, also showing variations in the efficiency and the necessary time for the consumption of DPPH•. The ones that showed higher antioxidant activity in tests on UV-VIS coincide with those who consumed more quickly DPPH • in the tests with EPR, confirming the efficiency of the method. The redoxomas that showed the best results in both tests (01, 17, 18 and 19) were dissolved in N-butildietanolamina (BDEA) and added to the biodiesel. This biodiesel additive was analyzed in order to determine their stability to oxidation, according to the Rancimat Method (EN 14 112), the standard method adopted by National Petroleum Agency (ANP) for this analysis. In tests on Rancimat the four redoxomas increased the oxidative stability of the biodiesel samples, but the best results were obtained with redoxoma 17, performing as efficient as the first redoxoma, also known as TEMPOL (4-Hydroxy-2 ,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl), recently patented as an antioxidant for biodiesel [73].

Key words:Biodiesel. Oxidation. Antioxidants. EPR. Redoxomas. Oxidation stability. Rancimat.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL	30
FIGURA 2 - PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR PAÍSES, EM 2010 [15]	31
FIGURA 3 - ÁCIDO LINOLÊNICO COM INSATURAÇÃO METILENO-INTERROMPIDA	33
FIGURA 4 - ISÔMERO COM ARRANJO DE INSATURAÇÃO CONJUGADA	33
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO BHA (a), BHT (b), TBHQ (c) E PROPIL GALATO (d)	41
FIGURA 6 - ESTRUTURA DE AMINAS AROMÁTICAS SECUNDÁRIAS [47].....	41
FIGURA 7 - TIPOS DE TOCOFERÓIS [48]	44
FIGURA 8 - ESTRUTURA GERAL DE UM FLAVONOIDE	44
FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DE DOIS ANTIOXIDANTES COMERCIAIS, À ESQUERDA ESTÁ REPRESENTADO O SANTOFLEX E À DIREITA O IONOL	45
FIGURA 10 - MOLÉCULA DO DPPH (À ESQUERDA) E DO TEMPOL (À DIREITA)	48
FIGURA 11 - TRANSIÇÃO DE EPR PARA SISTEMA DE $S = \frac{1}{2}$	48
FIGURA 12 - ESPECTROS DE EPR MOSTRANDO O GRÁFICO RELATIVO À VARIAÇÃO NA ABSORBÂNCIA, E O DA SUA PRIMEIRA DERIVADA, MAIS COMUMENTE UTILIZADO NOS ESTUDOS COM EPR.....	50
FIGURA 13 - SIMULAÇÃO DO ESPECTRO EM EPR (a) PARA UM ÁTOMO COM SPIN $I = 0$, (b) QUANDO HÁ A INTERAÇÃO ENTRE DOIS NÚCLEOS, PARA $I = \frac{1}{2}$ E CONSTANTE DE ACOPLAMENTO HIPERFINO a_1 , E (c) DO RADICAL CH_3 COM CONSTANTE DE ACOPLAMENTO HIPERFINO a_2	52
FIGURA 14 - ESTRUTURA DO DPPH ANTES E DEPOIS DA REAÇÃO COM O ANTIOXIDANTE (AH) [64].....	53
FIGURA 15 - APARELHO RANCIMAT (METHROM), À ESQUERDA, E À DIREITA, O SEU ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO.....	55
FIGURA 16 - (A) CURVA GERADA DURANTE A ANÁLISE. A RETA VERMELHA INDICA O LIMITE DO PERÍODO DE INDUÇÃO E É	

AUTOMATICAMENTE GERADA PELO SOFTWARE DO EQUIPAMENTO. (B) DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE INDUÇÃO ATRAVÉS DA INTERSEÇÃO DE DUAS RETAS TANGENTES À CURVA	56
FIGURA 17 - ESTRUTURA BÁSICA DAS REDOXOMAS TESTADAS (1-OXIL-2,2,6,6-TETRAMETIL-4-(<i>R</i>)PIPERIDINA).....	58
FIGURA 18 - ESPECTRO CARACTERÍSTICO DAS REDOXOMAS COM 3 LINHAS, DEVIDO À PROXIMIDADE DO RADICAL LIVRE A UM ÁTOMO DE ^{14}N E DO DPPH COM 5 LINHAS, DEVIDO À PROXIMIDADE DO RADICAL LIVRE A DOIS ÁTOMOS DE ^{14}N	63
FIGURA 19 - DESDOBRAMENTO DAS LINHAS DO DPPH, REPRESENTADO POR BARRAS VERTICAIS, PARA O ELÉTRON DESEMPARELHADO A IGUAL DISTÂNCIA DOS DOIS NÚCLEOS DE ÁTOMOS DE ^{14}N	64
FIGURA 20 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 01 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 21 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 02 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 22 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 04 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 23 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 05 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 24 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 06 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 25 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 07 NA PRESENÇA DE DPPH	66
FIGURA 26 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 08 NA PRESENÇA DE DPPH	67
FIGURA 27 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 09 NA PRESENÇA DE DPPH	67
FIGURA 28 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 10 NA PRESENÇA DE DPPH	67
FIGURA 29 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 11 NA PRESENÇA DE DPPH	67

FIGURA 30 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 12 NA PRESENÇA DE DPPH	67
FIGURA 31 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 13 NA PRESENÇA DE DPPH	67
FIGURA 32 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 14 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 33 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 15 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 34 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 16 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 35 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 17 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 36 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 18 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 37 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 19 NA PRESENÇA DE DPPH	68
FIGURA 38 - ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO ENTRE AS REDOXOMAS E O DPPH	70
FIGURA 39 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 01 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 40 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 02 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 41 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 04 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 42 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 05 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 43 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 06 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 44 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 07 NA PRESENÇA DE DPPH	72
FIGURA 45 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 08 NA PRESENÇA DE DPPH	73
FIGURA 46 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 09 NA PRESENÇA DE DPPH	73

FIGURA 47 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 10 NA PRESENÇA DE DPPH.....	73
FIGURA 48 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 11 NA PRESENÇA DE DPPH.....	73
FIGURA 49 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 12 NA PRESENÇA DE DPPH.....	73
FIGURA 50 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 13 NA PRESENÇA DE DPPH.....	73
FIGURA 51 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 14 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 52 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 15 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 53 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 16 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 54 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 17 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 55 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 18 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 56 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 19 NA PRESENÇA DE DPPH.....	74
FIGURA 57 - CURVA DE CALIBRAÇÃO DO DPPH	76
FIGURA 58 - COMPORTAMENTO CINÉTICO DAS REDOXOMAS ANALISADO POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS	76
FIGURA 59 - RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM AS REDOXOMAS. AS BARRAS FINAS REPRESENTAM O ERRO DO PROCEDIMENTO.	79
FIGURA 60 - TEMPOL COMERCIAL (À ESQUERDA) E REDOXOMA 01 (À DIREITA)	80
FIGURA 61 - TEMPO DE ESTABILIDADE OXIDATIVA PARA O BIODIESEL PURO (PURO), ADITIVADO COM 50 PPM DA REDOXOMA 01 (R01), 450 PPM DE BDEA (BDEA), 475 PPM DE BDEA E 25 PPM DA REDOXOMA 01 ADICIONADOS SEPARADAMENTE (BDEA + R01*) E COM UMA SOLUÇÃO DE 475 PPM DE BDEA E 25 PPM DE	

REDOXOMA 01 (SOLUÇÃO). AS LINHAS FINAS SOBRE AS BARRAS REPRESENTAM O ERRO RELATIVO AO PROCEDIMENTO.	81
FIGURA 62 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BODIESEL SEM ADITIVOS.....	82
FIGURA 63 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BODIESEL ADITIVADO COM A SOLUÇÃO BDEA/REDOXOMA 17	82
FIGURA 64 - ESTRUTURA QUÍMICA DO BDEA	83
FIGURA 65 - AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA REDOXOMA E DO BDEA NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BODIESEL	83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PRODUÇÃO MUNDIAL DE BIODIESEL EM MILHÕES DE METROS CÚBICOS [15]	31
TABELA 2 - ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	39
TABELA 3 - EXEMPLOS DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS E SUAS APLICAÇÕES.....	45
TABELA 4 - RESULTADO DE ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL UTILIZADO	57
TABELA 5 - MISTURAS BIODIESEL/REDOXOMAS/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE NO RANCIMAT	61
TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DA MISTURA BIODIESEL/REDOXOMA/BDEA PARA O SEGUNDO TESTE NO RANCIMAT.....	62
TABELA 7 - PERCENTUAL DE DPPH RESTANTE E DESVIO PADRÃO PARA AS MISTURAS REDOXOMA/DPPH NO TESTE EM UV-VIS	77
TABELA 8 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS REDOXOMAS EM RELAÇÃO AO DPPH.....	78

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANP	- Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AO	- Aditivo antioxidante
ASTM	- American Society for Testing and Materials
B100	- Diesel com 100% de biodiesel
BDEA	- N-Butildietanolamina
BHA	- Butil-hidroxi-anisol
BHT	- Butil-hidroxi-tolueno
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DBPC	- 2,6-di-tert-butyl-p-cresol, o mesmo que BHT
DCN	- Número Cetano Derivado
DPPH	- 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DPPH•	- Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DQ	- Departamento de Química
DTBHQ	- 2,5-di-terc-butilhidroquinona
EDTA	- Ácido etilenodiaminotetraacético
EN	- European Standards
EO	- Estabilidade oxidativa
EPR	- Electron paramagnetic resonance
ESR	- Electron spin resonance
INCT	- Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
INCT-EA	- Instituto Nacional de Energia e Ambiente
ISO	- International Organization for Standardization
LACAUTets	- Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos
LCC	- Líquido da castanha do caju
NBR	- Denominação de norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas
OSI	- Oil Stability Index
PDA	- Fenilenodiamina
PG	- Propil galato
RMN	- Ressonância magnética nuclear

TBHQ	- Terc-butil-hidroquinona
TEMPOL	- 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil
TI	- Tempo de indução
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
UV-VIS	- Espectroscopia no ultravioleta visível

LISTA DE SÍMBOLOS

A	- Constante de acoplamento hiperfino
E	-Energia magnética
g	- Fator g de EPR
G	- Gauss
h	- Constante de Plank
I	- Número de spin nuclear do átomo
IC ₅₀	- Concentração do antioxidante necessária para reduzir em 50% o radical DPPH
B ₀	- Campo magnético externo
MI	- Spin nuclear
ms	- Componente magnética do elétron
N	- Linhas de absorção do elétron
n	- Núcleos equivalentes de uma molécula
s	- Componente magnética do número quântico de spin
R	- Redoxoma
°C	- Grau Celsius
µg	- Micrograma
µL	- Microlitro
µm	- Micromolar
cos	- Cosseno
g	- Grama
GHz	- Gigahertz
kg	- Quilograma
L	- Litro
M	- Molar
mg	- Miligrama
ml	- Mililitro
mm	- Milímetro
mM	- Milimolar
mT	- Mili Tesla

nm	- Nanômetro
ppm	- Partes por milhão
T	- Tesla (unidade de campo magnético)
μ	- Momento magnético do elétron
μ_B	- Magnéton de Bohr
θ	- Ângulo entre o momento magnético e o campo magnético aplicado
ν	- Frequência da luz

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 PROBLEMA	25
1.2 JUSTIFICATIVA DESTA DISSERTAÇÃO	26
1.3 OBJETIVOS	27
1.3.1 Objetivo Geral	27
1.3.2 Objetivos Específicos	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 O BIODIESEL	29
2.2 ÁCIDOS GRAXOS	32
2.3 OXIDAÇÃO	34
2.3.1 Problemas da oxidação	35
2.4 OS RADICAIS LIVRES E OS ANTIOXIDANTES	38
2.4.1 Classificação e mecanismo de ação dos antioxidantes	40
2.4.2 Substâncias utilizadas industrialmente como antioxidantes	43
2.5 INSTITUTOS NACIONAIS DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA (INCT) ENVOLVIDOS NO PRESENTE PROJETO	46
2.5.1 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Processos Redox em Biomedicina (REDOXOMA)	46
2.5.2 Instituto Nacional de Energia e Ambiente (INCT-EA)	46
2.6 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)	47
2.7 MÉTODO DO 2,2-DIFENIL-1- PICRILHIDRAZILA (DPPH)	52
2.8 MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA	53
2.8.1 Método Rancimat	54
3 MATERIAIS E MÉTODOS	57
3.1 MATERIAIS	57
3.1.1. Biodiesel	57
3.1.2. Compostos antioxidantes: Redoxomas	58
3.2 MÉTODOS	58
3.2.1 Determinação da capacidade antioxidante das Redoxomas	58
3.2.2 Avaliação da estabilidade à oxidação do biodiesel	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63

4.1 ESPECTROSCOPIA DE EPR.....	63
4.2 ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS	69
4.3 TESTE RANCIMAT	79
5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	85
5.1 CONCLUSÕES	85
5.2 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	86
REFERÊNCIAS	87
ANEXO I	93

1 INTRODUÇÃO

Há cerca de cem anos, Rudolf Diesel testou óleo de amendoim como combustível para seu motor. Nas décadas de 1930 e 1940 os óleos vegetais foram usados como combustível diesel, mas, geralmente, em situações de emergência. Com o advento do petróleo barato, adequadas frações de petróleo foram refinadas para servir como combustíveis para motores a diesel e estes evoluíram juntos. Recentemente, devido a aumentos nos preços do petróleo, recursos limitados de óleo fóssil e as preocupações ambientais, tem havido um foco renovado em óleos vegetais e gorduras animais para fazer biodiesel. O contínuo e crescente uso do petróleo vai intensificar a poluição do ar local e ampliar os problemas do aquecimento global causados por emissões de gás carbônico [1].

O biodiesel é um combustível alternativo ao diesel mineral, produzido a partir de um ácido graxo e um álcool. Os triglicerídeos, provenientes de óleos vegetais ou gordura animal, misturados ao álcool, sofrem uma reação de transesterificação, produzindo glicerina, éster do ácido graxo, o biodiesel, além de outros produtos [2,3].

A principal vantagem do biodiesel em relação ao diesel derivado do petróleo é o aspecto ambiental. O caráter renovável do biodiesel está apoiado no fato de as matérias-primas utilizadas para a sua produção serem oriundas de fontes renováveis, isto é, de derivados de produtos agrícolas, como por exemplo, a soja, mamona, algodão, girassol e gordura animal [4].

A produção em larga escala desse biocombustível provocará a diversificação da matriz energética de combustíveis, que fará com que o impacto de problemas relativos a outros tipos de combustível utilizado no Brasil diminua. Dentro desse contexto, vários projetos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de melhorar a competitividade técnica, econômica e socioambiental deste que vem sendo considerado um substituto natural e ambientalmente correto para o diesel de petróleo.

Um dos pontos muito estudados para melhorar a competitividade técnica do biodiesel é a sua estabilidade química, inferior ao diesel, e que tem sua origem nas matérias primas utilizadas em sua produção. As principais causas desses processos oxidativos que ocorrem no biodiesel durante o seu armazenamento são a presença de oxigênio, traços de metais, temperatura e teor de insaturações dos ácidos graxos.

As consequências disso são a geração de produtos causadores de corrosão nos motores, obstrução dos filtros e do sistema de injeção, fatores estes que levaram a estabilidade oxidativa a se tornar um parâmetro do controle de qualidade do biodiesel, segundo a Resolução nº 42 de 24/11/2004 da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis; norma EN 14112) [5].

Entre as medidas tomadas para tentar controlar os processos oxidativos, destaca-se o uso de aditivos, substâncias ou mistura de substâncias químicas adicionadas em pequenas quantidades a produtos industriais, com o objetivo de conferir funcionalidade, desempenho e requisitos de qualidade. De modo geral, essas substâncias devem ser capazes de melhorar as propriedades já existentes, suprimir as indesejáveis e/ou introduzir novas [6].

Este trabalho pode ser dividido em três partes: (1) a primeira tem como objetivo verificar a existência de atividade antioxidante dos compostos estudados, utilizando-se para isso, da técnica da espectroscopia de EPR; (2) a segunda parte visa confirmar os resultados obtidos no EPR com uma técnica largamente utilizada para identificação de compostos antioxidantes, a espectroscopia de UV-Vis, além de pré-selecionar aqueles compostos com a maior atividade antioxidante para aplicação no biodiesel; e (3) a terceira parte é a análise da influência desses compostos na estabilidade oxidativa do biodiesel, através do Método Rancimat, que é o ensaio padrão exigido pela ANP para a análise da qualidade do biodiesel. Através dessa última análise será possível conhecer a viabilidade do uso desses compostos como aditivos antioxidantes para esse tipo de biocombustível.

Como o biodiesel apresenta estrutura em ácidos graxos parecida com os óleos vegetais e a gordura animal, os mesmos antioxidantes provenientes da indústria de óleos têm sido aplicados no controle do processo oxidativo, ou seja, antioxidantes na maioria das vezes alimentícios, como o BHA, BHT, TBHQ, propil galato (PG), pirogalol e tocoferóis, o que provoca um custo elevado do produto final, por isso muitos estudos vêm sendo feitos buscando antioxidantes alternativos para o biodiesel. Assim sendo, com o objetivo de avaliar uma nova classe de antioxidantes para o combate ao processo oxidativo do biodiesel de soja, utilizaram-se as redoxomas, substâncias sintéticas desenvolvidas *a priori* como biomarcadores para o controle de processos biológicos mediados por radicais livres.

Além de propor o uso de redoxomas no combate à oxidação do biodiesel, este trabalho defende a possibilidade do uso da espectroscopia de EPR no estudo e

identificação de compostos antioxidantes, aliado ao método mais comumente utilizado que é o sequestro do radical DPPH medido por meio de espectroscopia. A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) é uma das técnicas mais importantes e confiáveis para detecção assim como a caracterização qualitativa e quantitativa de antioxidantes. A técnica de *Spin Trapping* é uma abordagem eficaz para estudar um radical livre instável que reage com um composto diamagnético (*spin trap*) para se obter um produto de vida relativamente longa, como um aduto de spin. Sua estrutura molecular e eletrônica é diretamente dependente da natureza do radical livre instável capturado (tipo hidroxila, alcoóxido ou peróxido) [8,41,59].

No Capítulo 2 é feita uma revisão bibliográfica percorrendo sobre o biodiesel, ácidos graxos, processos de oxidação, radicais livres e antioxidantes, além de um pouco da teoria dos métodos utilizados neste trabalho, ressonância paramagnética eletrônica (EPR), método DPPH e o método Rancimat.

O Capítulo 3 é dedicado à descrição dos materiais e métodos utilizados no trabalho. Primeiramente são caracterizados o biodiesel e as redoxomas, e em seguida são apresentadas as técnicas e metodologias utilizadas na avaliação da atividade antioxidantes das redoxomas, assim como o teste Rancimat utilizado para a avaliação desses compostos como aditivos antioxidantes para o biodiesel.

O Capítulo 4 traz os resultados obtidos e a discussão dos mesmos. Esse capítulo é dividido em 3 partes, sendo que duas delas são referentes às técnicas de caracterização das redoxomas como compostos antioxidantes, mostrando a eficiência do método da espectroscopia de EPR na identificação desses compostos, assim como a comparação entre os dois métodos utilizados no estudo (espectroscopia de EPR e UV-Vis) e a última parte é referente à aplicação desses compostos no biodiesel, através do método padrão adotado pela ANP, o Rancimat.

O Capítulo 5 apresenta as conclusões e sugestões para futuros trabalhos.

1.1 PROBLEMA

Um ponto a ser melhorado no biodiesel é a sua estabilidade oxidativa. Devido à presença de ácidos graxos insaturados nos óleos e gorduras utilizados

como matéria prima, o biodiesel está sujeito a sofrer oxidação, desencadeada principalmente pelo contato com a luz (foto oxidação) e com o oxigênio do ar (autooxidação), gerando polímeros insolúveis, ácidos orgânicos leves corrosivos e peróxidos. Esses subprodutos podem causar danos aos tanques de armazenamento e motores por meio de corrosão e formação de depósitos insolúveis. Assim sendo, manter a qualidade e a estabilidade do biodiesel e suas misturas com combustíveis destilados do petróleo durante o período de estocagem é um consenso entre produtores, fornecedores e usuários do combustível. Além do que, existem também esforços para coordenar a criação de um padrão de adição de 10% de biodiesel no volume total de diesel combustível (atualmente o biodiesel vendido nos postos pelo Brasil possui 5% de biodiesel e 95% de diesel), aumentando a demanda do biocombustível, o que consequentemente aumentará a importância dos antioxidantes como estabilizantes no armazenamento do biodiesel [7].

1.2 JUSTIFICATIVA DESTA DISSERTAÇÃO

Pelo fato do biodiesel apresentar estrutura semelhante em ácidos graxos aos óleos vegetais e à gordura animal, tem-se aplicado no controle do processo oxidativo os mesmos antioxidantes provenientes da indústria de óleos, ou seja, antioxidantes na maioria das vezes alimentícios, o que provoca um custo elevado do produto final, por isso, com o intuito de testar uma nova classe de antioxidantes para o combate ao processo oxidativo do biodiesel de soja, utilizaram-se redoxomas, substâncias sintéticas desenvolvidas *a priori* como biomarcadores para o controle de processos biológicos mediados por radicais livres.

Uma vantagem desses compostos é que eles atuam como nitróxidos sequestrantes de radicais livres, parando o processo de oxidação já durante a fase de iniciação, possibilitando assim um maior período de estabilidade ao biodiesel. Além disso, o problema de solubilidade da redoxoma em ésteres de ácidos graxos é resolvido dissolvendo previamente a redoxoma em uma etanolamina.

A utilização da técnica de EPR na verificação qualitativa e quantitativa da capacidade antioxidante das substâncias sintéticas a serem testadas poderá

favorecer a descoberta de novos aditivos com estruturas de radicais livres que evitem ou inibam a oxidação do biodiesel [8,9].

A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica é uma técnica amplamente utilizada para a detecção de radicais livres. O único obstáculo é o curto tempo de vida destes radicais, o que é contornado com o uso da metodologia de captura de spin (*spin trapping*), na qual o radical livre é capturado por outra molécula (DPPH) formando um radical mais estável e, portanto, passível de detecção.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Este projeto tem como objetivo geral avaliar as propriedades antioxidantes de substâncias sintéticas, para que possam ser utilizados como aditivos do biodiesel, melhorando sua estabilidade oxidativa sem afetar suas outras características.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Selecionar os melhores aditivos, dentre os dezoito compostos testados.
- Introduzir a técnica de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) no estudo qualitativo de moléculas sintéticas candidatas ao uso como antioxidantes.
- Comparar os dados obtidos por espectroscopia de EPR com o método do 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH), o qual é baseado na interação de um antioxidante, radical livre, com o radical livre DPPH, formando uma ligação química e extinguindo ambos os radicais livres. O processo pode ser acompanhado também por espectroscopia de UV-VIS, pelo decréscimo da absorbância em 515nm, típica do radical livre DPPH.
- Determinar a concentração ideal do possível aditivo no biodiesel puro.

- Determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel com esses aditivos de acordo com o Método Rancimat, seguindo a norma europeia, EN 14112, estabelecida como padrão pela ANP para biodiesel puro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O BIODIESEL

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) define o biodiesel como um combustível para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável; composto de alquil-ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil. Pode ser usado puro ou misturado ao diesel em diversas proporções [5].

O nome biodiesel muitas vezes é confundido com a mistura diesel+biodiesel, mas designação correta para a mistura vendida nos postos deve ser precedida pela letra B (do inglês blend). Neste caso, a mistura de 2% de biodiesel ao diesel de petróleo é chamada de B2 e assim sucessivamente, até o biodiesel puro, denominado B100.

Quanto maior o percentual de biodiesel, mais ecologicamente amigável é o combustível. Misturas de biodiesel de 20% e inferior podem ser usadas em equipamentos diesel sem ou com algumas poucas modificações, embora alguns fabricantes não estendam a cobertura da garantia se o equipamento for danificado por essas misturas. O biodiesel pode também ser utilizado na sua forma pura (B100), mas pode exigir modificações do motor [10].

O biodiesel é obtido através de uma reação de transesterificação dos triglicerídeos (óleos vegetais, óleos de fritura usados e gordura animal) com um monoálcool de cadeia curta (geralmente metanol ou etanol) na presença de um catalisador. Os produtos dessa reação são glicerol (subproduto) e o biodiesel. Essa reação é chamada de transesterificação e é ilustrada na FIGURA 1 [1,11].

Vários artigos relatam características positivas do biodiesel [1,11,12,13], dentre elas:

- Pode ser derivado de matérias-primas renováveis;
- É relativamente seguro de manusear devido ao seu alto ponto de fulgor;

- O seu conteúdo energético, a gravidade específica, viscosidade cinemática e número de cetano são comparáveis aos dos combustíveis convencionais destilados de petróleo;
- Aumenta a lubricidade do combustível e melhora as propriedades antidesgaste em misturas com diesel de petróleo;
- Quando misturado ao diesel de petróleo em uma proporção mínima de 20% em volume, reduz hidrocarbonetos, monóxido de carbono, material particulado, dióxido de enxofre e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em emissões veiculares [7,14].

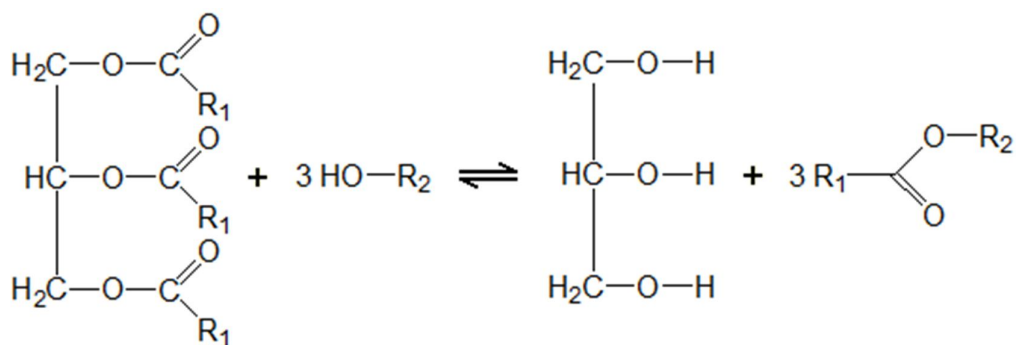


FIGURA 1 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

A cidade de Curitiba já conta com ônibus operando regularmente abastecidos exclusivamente com biodiesel, sem mistura de óleo mineral (B100). Atualmente são 32 ônibus, mas a previsão é que até o fim de 2012 serão 82 ônibus ao todo [16].

Comparada a uma frota equivalente, de ônibus movidos a diesel, a frota abastecida com o B100 emite 63,7% menos material particulado (fumaça); 46% menos monóxido de carbono e 65% menos hidrocarbonetos totais, além de não produzirem óxido de enxofre, o que contribui para melhorar a qualidade do ar, fator decisivo para se evitar doenças respiratórias como asma e bronquite [17].

Na Europa e nos Estados Unidos, o uso do biodiesel já é uma realidade. Os países da União Europeia têm desenvolvido programas nacionais de biocombustíveis e, como consequência, mais de 50% do volume total de biodiesel produzido no planeta é de origem europeia, sendo a Alemanha o maior produtor mundial. A TABELA 1 mostra o volume de biodiesel produzido por cada continente,

de 2007 a 2010, fazendo uma estimativa para a quantidade total referente a 2011. Na FIGURA 2 é possível ver o volume de biodiesel produzido por cada país, no ano de 2010 [15].

	2007	2008	2009	2010	2011*
Europa	6,9	8,4	10,0	10,4	10,2
América	2,7	5,3	5,4	6,1	7,8
Ásia	0,7	1,7	1,8	2,1	2,2
Oceania	0,0	0,1	0,1	0,2	0,2
Mundo	10,4	15,3	17,2	28,4	20,1

*estimado

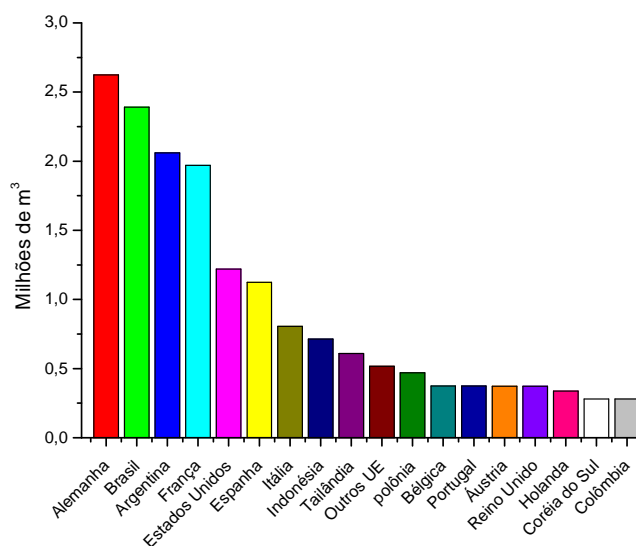


FIGURA 2 - PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR PAÍSES, EM 2010 [15]

Entretanto, apesar de suas inúmeras vantagens, a natureza do biodiesel o torna mais sensível à oxidação durante o armazenamento em longo prazo, do que o diesel de petróleo. A sensibilidade varia, dependendo da matéria-prima (presença de antioxidantes naturais) e das condições de armazenamento [18]. Os principais fatores que afetam as características do biodiesel são o comprimento da cadeia do ácido graxo, o número e a posição relativa das insaturações e a ocorrência de outras funções químicas na cadeia alifática [2].

Para que o biodiesel possa substituir o diesel de petróleo é necessário apresentar algumas características exigidas pela ANP, como estabilidade à oxidação, número de cetano, índice de acidez e índice de iodo, por exemplo. A

especificação do biodiesel é determinada pelo Regulamento Técnico contido na RESOLUÇÃO ANP Nº 7, de 19.3.2008 - DOU 20.3.2008.

2.2 ÁCIDOS GRAXOS

Ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos que apresentam o grupo carboxila ($-\text{COOH}$) ligado a uma longa cadeia alifática (que varia de 4 a 28 átomos de carbono), saturada ou insaturada, geralmente não ramificada e de número par de átomos de carbono [19]. Eles estão presentes nos óleos e são os responsáveis pelas principais diferenças entre os vários tipos de biodiesel, como por exemplo, seus pontos de fusão e suas texturas.

Durante as duas últimas décadas, a pesquisa de combustíveis alternativos tem se concentrado no uso potencial de ésteres alquílicos (mais especificamente ésteres metílicos) de óleos graxos renováveis. A qualidade desses combustíveis geralmente depende da composição dos ácidos graxos do óleo que foi usado como matéria prima [2,20].

Os ácidos graxos diferem entre si a partir do tamanho de sua cadeia hidrocarbônica, do número de insaturações e da presença de grupamentos químicos.

Quanto maior a cadeia hidrocarbônica da molécula, maior o número de cetano e a lubricidade do combustível, porém, maior o ponto de névoa e o ponto de entupimento. Assim, moléculas exageradamente grandes (cadeias longas, com mais de 20 carbonos), tornam o combustível de uso difícil em regiões com temperaturas baixas [20,21].

Em relação às insaturações, quanto menor o número de insaturações nas moléculas, maior o número de cetano do combustível, ocasionando uma melhor "qualidade à combustão". Por outro lado, isto ocasiona também um aumento no ponto de névoa e de entupimento (maior sensibilidade aos climas frios). Por outro lado, quanto maior o número de insaturações, mais susceptível está a molécula à degradação, tanto térmica quanto oxidativa, formando produtos insolúveis que ocasionam problemas de formação de depósitos e entupimento do sistema de injeção de combustível do motor [21].

Assim, tanto os ésteres alquílicos de ácidos graxos saturados (láurico, palmítico, esteárico) como os poli-insaturados (linoleico, linolênico) possuem alguns inconvenientes. De maneira geral, um biodiesel com predominância de ácidos graxos combinados monoinsaturados (oleico, ricinoleico) são os que apresentam os melhores resultados.

As vias de degradação de reação para ésteres metílicos derivados de óleos naturais graxos (biodiesel) são determinadas pela insaturação olefínica na cadeia de ácidos graxos. Ácidos graxos insaturados e poli-insaturados são significativamente mais reativos à oxidação do que compostos saturados porque as cadeias de ácidos graxos insaturados contêm os locais mais reativos (insaturações) e são particularmente mais susceptíveis ao ataque de radicais livres [22]. Como a cadeia de ácidos graxos não é alterada durante o processo químico pelo qual óleos graxos são transesterificados em ésteres de alquila, a química de degradação do biodiesel é a mesma que a dos óleos graxos a partir do qual foi derivado [20]. Embora as propriedades de estabilidade química do biodiesel tenham sido investigadas por mais de 20 anos, as propriedades de estabilidade química de óleos graxos tem sido o foco de pesquisas por 80 anos [13].

Para compreender a química de oxidação de ácidos graxos insaturados, ou estabilidade oxidativa, é preciso, primeiramente, compreender a estrutura da insaturação dessas moléculas.

Na maioria dos óleos graxos de ocorrência natural, incluindo os de girassol, milho, algodão, canola e soja, as insaturações olefínicas ocorrem em uma configuração de metileno-interrompida [22,23,24]. Esta estrutura é ilustrada na FIGURA 3 para o ácido linolênico, e é contrastada com um isômero com arranjo de insaturação conjugada na FIGURA 4 [13].



FIGURA 3 - ÁCIDO LINOLÊNICO COM INSATURAÇÃO METILENO-INTERROMPIDA



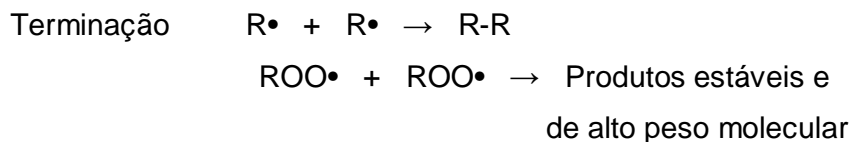
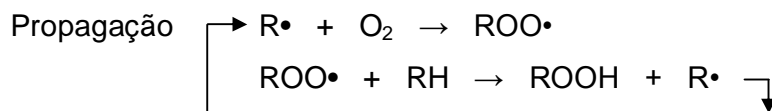
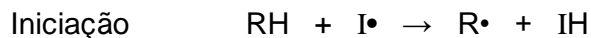
FIGURA 4 - ISÔMERO COM ARRANJO DE INSATURAÇÃO CONJUGADA

O arranjo de insaturações conjugadas é o arranjo termodinamicamente mais estável devido à estabilização parcial dos elétrons π deslocalizados [25]. No entanto, o rearranjo espontâneo de uma configuração metileno-interrompida para uma configuração conjugada não ocorre com facilidade devido à alta energia de ativação associada com a quebra e reforma das ligações π [26].

2.3 OXIDAÇÃO

Depois de diversas pesquisas, a teoria da reação em cadeia da peroxidação por radicais livres, para ácidos graxos insaturados, foi definitivamente estabelecida [13,27]. A peroxidação ocorre por um conjunto de reações classificadas como de iniciação, de propagação e de terminação.

Conforme mostrado no esquema a seguir, na etapa de iniciação, a cadeia carbônica (RH) é atacada por um radical livre ($I\bullet$), o qual pode ser uma espécie reativa de oxigênio, que remove um átomo de hidrogênio e forma um radical livre de carbono, o radical alquila ($R\bullet$). Se o oxigênio diatômico estiver presente (atmosfera oxidante), a reação de propagação para formar um radical peróxido é extremamente rápida. Os radicais livres peróxidos não são tão reativos como os de carbono, mesmo assim são suficientemente reativos para rapidamente extraírem outro hidrogênio e formar outro radical livre de carbono e um hidroperóxido ($ROOH$) [13,28]. O novo radical livre no carbono pode reagir com o oxigênio diatômico para continuar a propagação do ciclo. Essa reação em cadeia termina quando dois radicais livres reagem entre si, numa etapa de terminação, resultando em produtos estáveis pesados.



Durante o período inicial de oxidação, a concentração de ROOH permanece bem baixa por um determinado intervalo de tempo. Esse período de tempo é chamado “Período de Indução” e é determinado pela estabilidade de oxidação de ácidos graxos. Ao atingir o período de indução, o nível de ROOH aumenta rapidamente, sinalizando o início do processo de oxidação global.

Na fase de oxidação secundária do biodiesel, são gerados, ácidos voláteis, principalmente ácidos fórmicos e ácidos acéticos. E é nesse fato que se baseia o método Rancimat (EN 14112), método padrão adotado pela ANP para a avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel. Esse método nos fornece o tempo de indução, sendo que o tempo mínimo exigido pela norma é de 6h. O método tem como base o aumento da condutividade elétrica de uma solução aquosa onde esses ácidos voláteis produzidos pelas reações de oxidação do biodiesel são absorvidos. Uma descrição mais detalhada do método é feita no item 2.8.1.

Para saber o quão propenso à oxidação é o biodiesel, utiliza-se um teste chamado de índice de iodo, que é a medida da insaturação de óleos e gorduras e é definido como a quantidade de halogênio em gramas, calculado como iodo absorvido por 100 gramas de amostra analisada [29]. Esse teste representa a verdadeira insaturação dos ácidos graxos (oriundos do óleo ou gordura utilizada como matéria prima), quando as duplas ligações não são “conjugadas” (como demonstrado na FIGURA 4) e nem se situam em posições adjacentes à carboxila, pois nesses casos a adição de halogênio é incompleta, ou seja, não é quantitativa e não contribui de forma significativa no processo de oxidação do biodiesel. Pode-se dizer então que, quanto maior o nível de insaturação não conjugada no óleo ou na gordura utilizada na produção do biodiesel, maior será a sua suscetibilidade à oxidação [12,30].

2.3.1 Problemas da oxidação

Vários são os fatores que podem desencadear a oxidação do biodiesel, entre os mais importantes estão a oxidação devido às altas temperaturas, contato com o oxigênio, luz, presença de água e de alguns íons metálicos como os de cobre, ferro, níquel e estanho [13]:

LUZ: A iniciação da oxidação por exposição à luz, ou foto-oxidação, é dada por um mecanismo em que o oxigênio ataca diretamente os carbonos olefínicos. A foto-oxidação é muito mais rápida do que a auto-oxidação devido ao reagente $^1\text{O}_2$ (oxigênio singleto), formado pela energia da radiação eletromagnética, ser mais estável termodinamicamente e, portanto, mais reativo que o oxigênio molecular no estado fundamental [2].

CALOR: A oxidação térmica é caracterizada pela rápida redução na quantidade de insaturações totais, com três grupos olefínicos se transformando em um. Esse tipo de oxidação não afeta a estabilidade de armazenamento, entretanto, é de extrema importância para o combustível que é aquecido e reciclado no tanque, várias vezes antes da sua combustão. Além disso, a temperatura da chapa de um tanque de armazenamento pode chegar a 70°C.

ÁGUA: Na oxidação devido à presença de água ou contato com o oxigênio, há a formação de hidroperóxidos, que, por serem muito instáveis, logo reagem com os ácidos graxos, decompondo-os para formar aldeídos, tais como hexanal, heptanal e propanal. Álcoois alifáticos, ácido fórmico, formiato e ésteres também foram detectados. Como resultado da oxidação de óleos graxos, há um aumento da acidez devido à formação de ácidos graxos de cadeias curtas. [2,20]

METAIS: Os contaminantes metálicos catalisam a oxidação de radicais livres de ácidos graxos insaturados e dos ésteres metílicos destes ácidos. Estas moléculas são altamente reativas porque contêm hidrogênios bis-alílicos, precursores de radicais livres, os quais reagem com o oxigênio para formar hidroperóxidos. Os metais atuam como catalisadores da decomposição dos hidroperóxidos, acelerando a auto-oxidação [13,2]. Uma das principais fontes de contaminação do biodiesel são os tanques de estocagem. A capacidade de solvência do biodiesel faz com que sedimentos permaneçam solúveis no combustível. Outras fontes potenciais são o óleo utilizado na esterificação e a contaminação resultante do processo de fabricação.

As consequências dessa oxidação são também o aumento da viscosidade do biodiesel, devido ao aumento de compostos com alto peso molecular e formação de borras, que podem causar entupimentos no motor, filtros e sistema de injeção. Essas mudanças também afetam o armazenamento e transporte do biodiesel, pois podem causar o fechamento de dutos e problemas com as bombas. Além disso, a

formação de ácidos orgânicos leves aumenta a acidez total e o risco de corrosão, tanto no veículo quanto nos tanques de armazenagem [13,18,20,22,27].

Vários estudos vêm sendo feitos sobre armazenamento e estabilidade oxidativa do biodiesel sintetizado a partir de óleos comestíveis, como o efeito da estrutura de compostos graxos na estabilidade de produtos derivados de óleos vegetais [31]; a estabilidade oxidativa dos ésteres etílicos de ácidos graxos em óleos neutro, refinado e de fritura usado [32]; a avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel a partir do óleo de girassol aditivado com antioxidantes sintéticos, como o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) [33], sendo esses os antioxidantes mais estudados para a aditivação do biodiesel.

Em outro estudo, foi analisada a influência de antioxidantes, tanto sintéticos quanto naturais, na estabilidade oxidativa do biodiesel derivado de óleo de soja, de colza, óleo de cozinha usado, sebo bovino e de óleo de palma, e foi observado que os antioxidantes sintéticos tais como TBHQ, BHA, BHT, PG e pirogalol foram geralmente mais eficazes do que as misturas antioxidantes naturais, tais como tocoferóis [7].

Em testes feitos com biodiesel produzido a partir de etanol e óleo de girassol, avaliando os mesmos antioxidantes, constatou-se que o antioxidante TBHQ foi o que apresentou melhores resultados, sendo o mais indicado para esse tipo de biodiesel [33]. Já para o biodiesel de óleo de karanja, o que apresentou melhor desempenho foi o propil galato, seguido pelo BHA e BHT [27].

Na comparação entre esses compostos antioxidantes comumente utilizados e alguns antioxidantes comerciais, aplicados ao biodiesel produzido a partir de ácidos graxos livres, o resultado mostra que, em ordem crescente, os melhores foram: pirogalol, Ethanox 4760E, propil galato, Ethanox 4740, BHA, BHT, TBHQ, 2,5-di-terc-butilhidroquinona (DTBHQ), α -tocoferol. Além disso, foi estudada qual seria a menor dose de antioxidante que promovesse um aumento notável no período de indução do biodiesel e o resultado obtido foi de aproximadamente 100 ppm [34].

Em muitos países, estudos sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel têm verificado a influência da matéria prima do óleo utilizado na sua produção, utilizando-se de fontes regionais, como o óleo de karanja, na Índia [27]; o óleo de semente de tabaco, na Turquia [35]; uma mistura de óleo de girassol com óleo de marula

(*Sclerocarya birrea*) no Sudão [36] e óleo de Croton *Megalocarpus*, planta típica do leste africano [37].

No Brasil, uma fonte antioxidante descoberta recentemente foi o líquido da casca de castanha de caju, um subproduto do processamento da castanha de caju, muito popular no nordeste brasileiro [38,6]. Nos Estados Unidos foi realizado um estudo mostrando a eficiência do *gossypol* como um aditivo antioxidante em ésteres metílicos de ácidos graxos preparados a partir de óleo de soja e de fritura usado [39].

A partir destes relatórios da literatura, pode-se concluir que é fundamental a utilização de aditivos antioxidantes para garantir a qualidade do biodiesel. Os antioxidantes causam o atraso no início da oxidação por reagirem com os radicais livres para formar compostos estáveis que não contribuem para a reação em cadeia da oxidação [20,22,40].

2.4 OS RADICAIS LIVRES E OS ANTIOXIDANTES

Os átomos contêm um núcleo onde se localizam os prótons e nêutrons, e ao seu redor há os orbitais, ou níveis de energia, onde os seus elétrons se distribuem, usualmente em pares. Para ser estável, todo átomo precisa ter um número par de elétrons na última camada de sua eletrosfera. Quando há a perda de um elétron dessa camada, o composto torna-se instável, altamente reativo, tendendo a “roubar” elétron de outra estrutura (molécula) e se ligar com elas, formando outros compostos, de cadeias carbônicas maiores, e por isso, normalmente mais pesados.

Assim, pode-se dizer que um radical livre é um átomo ou molécula que contém um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos, os quais são responsáveis pela alteração na reatividade química dos átomos ou moléculas, tornando-os mais reativos que as espécies com os elétrons pareados. Além disso, os radicais livres são capazes de existir independentemente e apresentam, em geral, grande instabilidade, têm vida muito curta e reagem rapidamente com diversos compostos. O radical hidrogênio ($H\bullet$), resultante, por exemplo, da quebra homolítica da molécula, $H-H$, e que contém um (1) próton e um (1) elétron, é o mais simples de todos os radicais livres.

As reações em cadeia dos radicais livres são iniciadas pela remoção (abstração) do ($H\bullet$) de outras moléculas, como, por exemplo, durante a peroxidação lipídica [2,3,22,40]. Estas reações são iniciadas com a formação de radicais livres, espécies reativas de oxigênio estruturalmente instáveis, amplamente distribuídas na natureza, encontradas em organismos vegetais e animais.

O termo espécies reativas de oxigênio não inclui somente radicais de oxigênio, como os radicais superóxido ($O_2\bullet$) ou hidroxila ($OH\bullet$), mas também alguns derivados não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) [8,41]. Outros exemplos de espécies reativas de oxigênio são apresentados na TABELA 2.

TABELA 2 - ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Radicais livres	Não radicais
Radical hidroxil ($OH\bullet$)	Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)
Radical nítrico ($N\bullet O$)	Ácido hipocloroso ($HOCl$)
Radical superóxido ($O_2\bullet^-$)	Oxigênio singlete (1O_2)
Radical peroxil ($ROO\bullet$)	Ozônio (O_3)
Radical alcóxil ($RO\bullet$)	

Muitos estudos têm sido realizados para se compreender o processo de oxidação e mostram que a oxidação se correlaciona fundamentalmente com a formação de peróxidos orgânicos [2,12,13,23,42]. Esses peróxidos são os principais produtos de oxidação, que se decompõem para formar novos radicais, provocando assim reações em cadeia (como ilustrado no item 2.3, onde se podem identificar os dois principais radicais a serem combatidos ou neutralizados).

À substância capaz de retardar ou diminuir a oxidação do biodiesel, mesmo que em baixa concentração, dá-se o nome de antioxidante. Os diferentes antioxidantes podem atuar em níveis e com modos de ação distintos. Eles podem, teoricamente, prolongar a fase de iniciação ou então inibir a fase de propagação, mas não podem prevenir completamente a oxidação [6,75].

Os antioxidantes são compostos orgânicos que reagem com os compostos intermediários (radicais livres e peróxidos), tão logo se formam, impedindo assim a continuidade do processo oxidativo. Vários segmentos industriais fazem uso de antioxidantes em seus produtos, dentre eles a petroquímica, o setor de alimentos, tintas e vernizes, combustíveis, lubrificantes e fármacos [48].

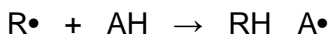
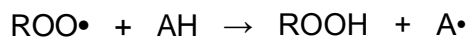
Todo antioxidante é, de fato, um agente redox (redução-oxidação), protegendo contra os radicais livres em algumas circunstâncias (agindo como

antioxidante propriamente dito) ou promovendo a geração de radicais livres em outras (quando atua como pró-oxidante). São chamadas de pró-oxidantes as substâncias que induzem stress oxidativo, quer através da criação de espécies reativas de oxigênio, quer através da inibição dos sistemas antioxidantes. O que determina o seu comportamento são as condições em que se encontra, como por exemplo, a concentração do químico e a presença ou não de oxigênio ou metais de transição [56].

2.4.1 Classificação e mecanismo de ação dos antioxidantes

Antioxidantes são classificados segundo o seu mecanismo de ação em primários (que quebram a cadeia de reação da oxidação) e secundários (que diminuem a velocidade da reação de oxidação ou atuam na decomposição de hidroperóxidos). Em alguns casos os antioxidantes podem apresentar mais de um tipo de mecanismo de ação [42,43].

Primários (ou bloqueadores) - quebram a cadeia de reação da oxidação através da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. O mecanismo de ação proposto para este tipo de antioxidante é exemplificado no esquema a seguir [44,45,46]:



O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante (AH) é capturado pelos radicais livres ($\text{ROO}\bullet$ e $\text{R}\bullet$) com maior facilidade do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, por possuir maior afinidade com os radicais peróxidos, formam-se espécies inativas mais estáveis ($\text{A}\bullet$), que inibem a etapa de iniciação ou interrompem a etapa de propagação da auto-oxidação. Este radical, por ser estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. Os antioxidantes principais e mais conhecidos deste grupo são

os polifenóis, como BHA, BHT, TBHQ e PG (FIGURA 5), que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais. Estes últimos também podem ser classificados como antioxidantes biológicos [23,45].

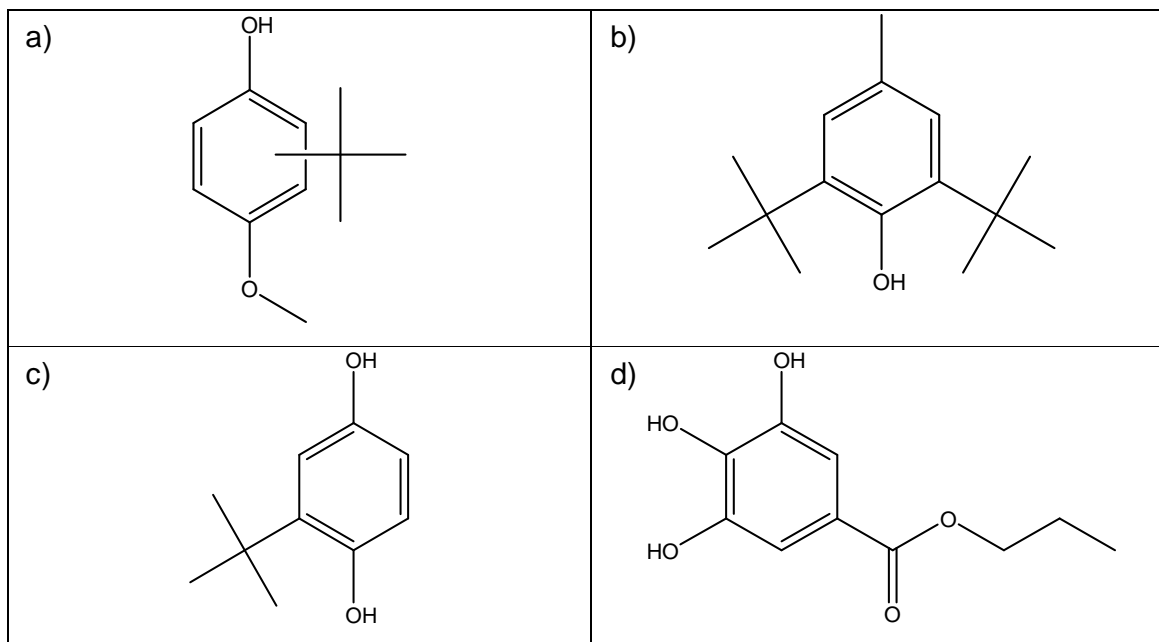


FIGURA 5- REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DO BHA (a), BHT (b), TBHQ (c) E PROPIL GALATO (d)

Além desses, compostos constituídos por aminas aromáticas secundárias ou p-fenilenodiaminas também são exemplos de antioxidantes primários (FIGURA 6).

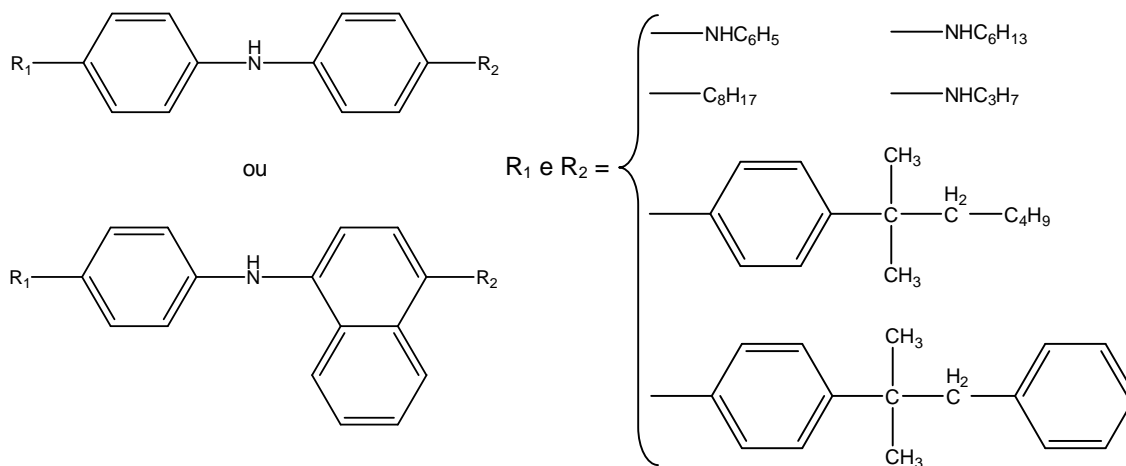


FIGURA 6 - ESTRUTURA DE AMINAS AROMÁTICAS SECUNDÁRIAS [47].

Esses compostos desativam os radicais livres e podem ser obtidos a partir de diferentes tipos de substituintes nas posições *para* dos anéis aromáticos. Como alguns dos seus substituintes podem também ser aminas secundárias, eles poderão, adicionalmente, atuar como supressores de radicais livres pelo mesmo mecanismo das aminas aromáticas, mas com menor impedimento estérico e sem apresentar o efeito de estabilização do radical livre causado pelo anel aromático [47,48].

– **Secundários (ou complexantes)** - diminuem a velocidade da reação de oxidação, retardando a etapa de iniciação por diversos mecanismos que incluem complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação do oxigênio singleto. A diferença dos antioxidantes secundários, é que eles não se convertem em radicais livres estáveis, e sim usam de diferentes mecanismos para retardar a taxa das reações de oxidação. Podem atuar como agentes quelantes, promovendo a complexação de íons metálicos que catalisam a oxidação, desativando-os; regenerar antioxidantes primários pela reposição de hidrogênio; decompor hidroperóxidos em espécies não reativas; desativar o oxigênio singleto; absorver a radiação ultravioleta ou agir como sequestradores de oxigênio. Eles tendem, muitas vezes, a aumentar a atividade dos antioxidantes primários [48,49]. Entre os antioxidantes secundários pode-se fazer uma segunda classificação: sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos.

Os **sinergistas** são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usadas em combinação adequada com eles. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergisticamente, como o BHA e o BHT, dois antioxidantes muito utilizados tanto pela indústria química quanto alimentícia, quando utilizados em conjunto são sinergistas entre si. O BHA age como sequestrante de radicais peróxidos, enquanto o BHT age como sinergista, ou regenerados de radicais BHA [23,45,50,47,49]. O ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de outros antioxidantes primários [45,51,52].

Os **removedores de oxigênio** são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os,

consequentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autooxidação. Ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo.

Os **antioxidantes biológicos** incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Estas substâncias podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício [51].

Os **agentes quelantes/sequestrantes** complexam íons metálicos, principalmente de cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Pares de elétrons não compartilhados na sua estrutura molecular do quelante promovem a ação de quelação. Os mais comuns são o ácido cítrico e seus sais, fosfatos poliméricos e sais de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) [30,49].

Os **antioxidantes mistos** incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico (ácido cafeico) [49].

2.4.2 Substâncias utilizadas industrialmente como antioxidantes

A seleção de antioxidantes leva em consideração as seguintes propriedades: eficiência em baixas concentrações (10 a 1000 ppm), estabilidade nas condições de processos e armazenamento [51]. Além disso, a origem do biodiesel também influencia na eficiência/comportamento do antioxidante.

Os antioxidantes podem ser de origem natural ou sintética. Entre os **antioxidantes naturais** mais utilizados podem ser citados tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas, como alecrim e sálvia [45].

O tocoferol, por ser um dos melhores antioxidantes naturais é amplamente aplicado como meio para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados [49], ele está presente de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e atualmente também pode ser fabricado por síntese. Existem quatro tipos: α , β , γ e δ , dependendo da localização do grupo metila no anel principal (FIGURA 7). A atividade antioxidante dos tocoferóis é devida principalmente à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação

em cadeia. O α -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar a oxidação [53].

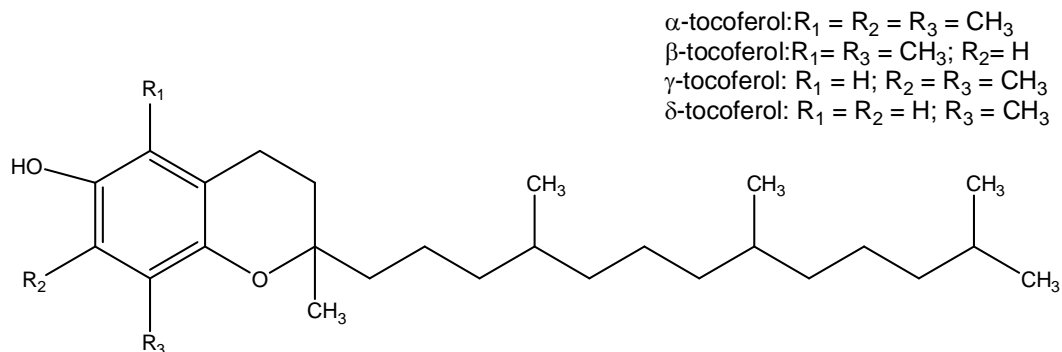


FIGURA 7 - TIPOS DE TOCOFERÓIS [48]

Os flavonoides (FIGURA 8) são antioxidantes polifenólicos, que ocorrem amplamente em células vivas, na forma de glicosídeos, sendo considerados potentes antioxidantes. São aceptores de radicais livres, portanto clivam ligações dos hidroperóxidos e quelam metais pró-oxidantes como zinco (Zn), cobre (Cu) e ferro (Fe) [6,54].

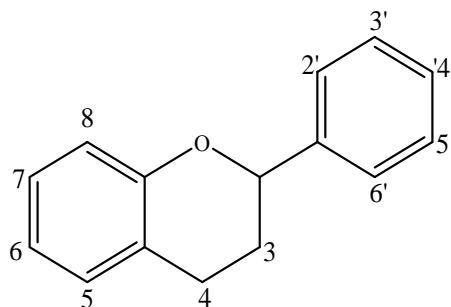


FIGURA 8 - ESTRUTURA GERAL DE UM FLAVONOIDE

Antioxidantes como os flavonoides e tocoferóis, apresentam estruturas complexas e suas atividades antioxidantes dependem dos grupos hidroxila presentes em sua estrutura. Em relação à ação inibidora dos radicais livres, os flavonoides são considerados os mais eficazes. Isso mostra que a estrutura do antioxidante é fundamental para a atividade do mesmo (atividade protetora) [6,55].

Dentre os diversos antioxidantes sintéticos, os mais utilizados na indústria são os polifenóis como 3,5-di-t-butil-4-hidroxitolueno (BHT), 2 e 3-t-butil-4-metil-

metoxifenol (BHA), 3,4,5-ácido triidroxibenzóico-propil galato e terc-Butilhidroquinona (TBHQ). O BHA e o TBHQ são os mais utilizados na conservação de óleos vegetais estocados [6,54,56]. Alguns dos antioxidantes comerciais são mostrados na FIGURA 9, à esquerda está a estrutura química do Santoflex, produzido pela Lanxess - Rhine Chemie's Additin, cujo composto principal é o AO-22 (99,8%), de nome N,N'-di-sec-butil-p-fenilenodiamina, e à esquerda está representada a estrutura do Ionol, fabricado pela Oxiris Chemicals S. A., cujo componente principal é o AO-29, que é o BHT. Na TABELA 3 estão listados alguns antioxidantes sintéticos e suas respectivas aplicações.

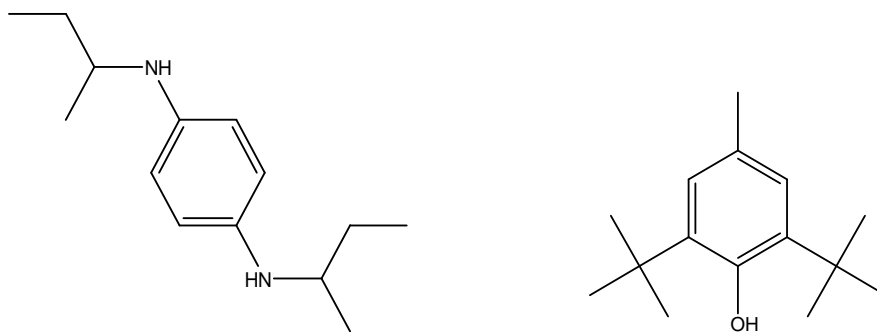


FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DE DOIS ANTIOXIDANTES COMERCIAIS, À ESQUERDA ESTÁ REPRESENTADO O SANTOFLEX E À DIREITA O IONOL

TABELA 3 - EXEMPLOS DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS E SUAS APLICAÇÕES

Aditivo	Composição	Aplicações
combustível		
AO-22	N,N'-di-2-sec-butil-fenilenodiamina	Óleos de turbina, óleos de transformador, fluidos hidráulicos, ceras e graxas
AO-24	N,N'-di-2-butyl-1,4-fenilenodiamina	Óleos de baixas temperaturas
AO-29	2,6-di-tert-butil-4-metilfenol	Óleos de turbina, óleos de transformador, fluidos hidráulicos, ceras, graxas e gasolinas
AO-30	2,4-dimetil-6-tert-butilfenol	Combustível de jato e gasolinas, incluindo gasolinas para aviação
AO-31	2,4-dimetil-6-tert-butilfenol	Combustível de jato e gasolinas, incluindo gasolinas para aviação
AO-32	2,4-dimetil-6-tert-butilfenol e 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol	Combustível de jato e gasolinas, incluindo gasolinas para aviação
AO-37	2,6-di-tert-butilfenol	Combustível de jato e gasolinas, amplamente aprovado para combustível de aviação

2.5 INSTITUTOS NACIONAIS DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA (INCT) ENVOLVIDOS NO PRESENTE PROJETO

2.5.1 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Processos Redox em Biomedicina (REDOXOMA)

O Instituto Redoxoma é composto por uma rede de aproximadamente 200 pesquisadores divididos em 25 grupos de pesquisa espalhados por todo o Brasil. Esse projeto é financiado pelo Programa dos Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia do Ministério da Ciência e Tecnologia, coordenado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O objetivo do projeto é desenvolver novos biomarcadores e estratégias antioxidantes para aperfeiçoar o monitoramento e controle de processos biológicos mediados por radicais livres [58].

2.5.2 Instituto Nacional de Energia e Ambiente (INCT-EA)

O INCT-EA atua na forma de rede nacional de grupos de pesquisa, para estudar a preparação de biocombustíveis associada à valorização dos coprodutos; a formulação e certificação de combustíveis e de misturas de combustíveis fósseis e biocombustíveis; a combustão em motores estacionários e em dinamômetro de rolos e o impacto dos gases e material particulado (em escala micrométrica e nanométrica) emitidos na atmosfera de centros urbanos brasileiros. Os estudos do INCT-EA também estão voltados à análise do ciclo de vida envolvido na produção de combustíveis com ênfase em sequestro e conversão de carbono e estudos de impactos e toxicologia.

Apesar de tratarem, os dois INCTs, de um estudo de radicais livres voltados para problemas biológicos, surgiu a ideia de aplicar as redoxomas no combate aos radicais livres do biodiesel, um dos maiores problemas dos deste tipo de biocombustível.

2.6 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

A espectroscopia de EPR foi observada pela primeira vez na Universidade de Kazan, Rússia, pelo físico soviético Yevgeny Zavoisky em 1944, e foi desenvolvida, de forma independente, ao mesmo tempo, por Brebis Bleaney na Universidade de Oxford, Inglaterra.

Uma das técnicas mais importantes e confiáveis para a detecção e caracterização de radicais livres é a espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica [8]. A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica ou de ressonância de spin eletrônico (EPR, do inglês *electron paramagnetic resonance* ou ainda ESR, do inglês *electron spin resonance*) é uma técnica para estudar espécies químicas que têm um ou mais elétrons desemparelhados, como radicais livres orgânicos e inorgânicos ou complexos inorgânicos que possuem um íon de metal de transição com elétrons desemparelhados.

A espectroscopia de EPR tem amplo uso em datação de fósseis, identificação de substâncias paramagnéticas, dosímetros de radiação ionizante e outras aplicações, incluindo a avaliação antioxidante, que permite o estudo sobre a cinética e estequiometria das reações de radicais livres e compostos antioxidantes. Uma maneira de executar estes testes é através da medida da concentração de radicais livres que estão em contato com a substância antioxidante usando outros radicais livres estáveis, como o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e o 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPOL) (FIGURA 10). DPPH e TEMPOL são conhecidos como substâncias padrão em espectroscopia de EPR e são largamente aplicados em estudos da atividade antioxidante. O DPPH é mais frequentemente utilizado para atividades de medição antioxidantes em testes de espectroscopia óptica e também em EPR [41].

Outra abordagem para a realização de estudos de substâncias antioxidantes é utilizar a técnica de “spin trapping”. Essa técnica baseia-se na reação de radical livre instável com um composto diamagnético (*spin trap*), resultando em um produto de vida relativamente longa, como um produto de adição (aduto) de *spin*. Sua estrutura molecular e eletrônica é diretamente dependente da natureza do radical livre instável capturado (como hidroxila ou peróxido). Consequentemente, os parâmetros de EPR estão condicionados ao aduto resultante [8,41].

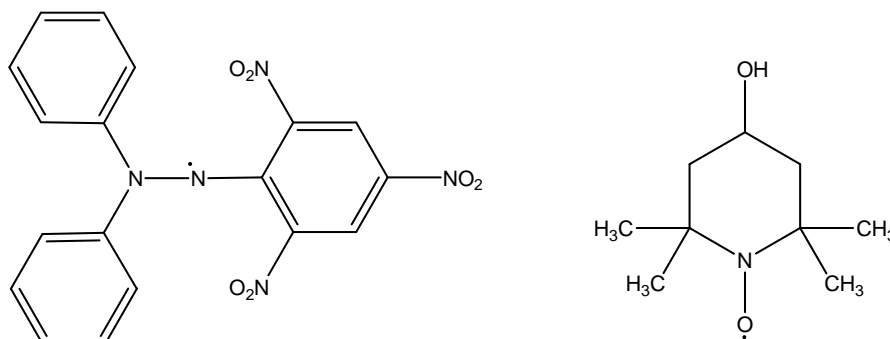


FIGURA 10 - MOLÉCULA DO DPPH• (À ESQUERDA) E DO TEMPOL (À DIREITA)

Cada elétron tem um momento magnético e um número quântico de spin ($s = \frac{1}{2}$), com componentes magnéticas $m_s = +\frac{1}{2}$ e $m_s = -\frac{1}{2}$. Na ausência de um campo magnético, um elétron desemparelhado de um radical livre tem a mesma energia, não importa qual a direção do seu spin, porém, ao colocá-lo em presença de um campo magnético externo de intensidade B_0 , o seu momento magnético se alinha, paralelo ($m_s = -\frac{1}{2}$) ou antiparalelo ($m_s = +\frac{1}{2}$) ao campo, sendo que cada alinhamento tem uma energia específica, pois como as duas direções do spin tem energias diferentes, a radiação eletromagnética provoca uma transição entre os dois níveis de energia. O elétron terá o estado de energia mais baixo quando o seu momento magnético, μ , estiver alinhado com o campo magnético (alinhamento paralelo) e um estado de energia mais elevado quando μ estiver alinhado contra o campo magnético (alinhamento antiparalelo) [59,60]. Esse efeito é ilustrado na FIGURA 11.

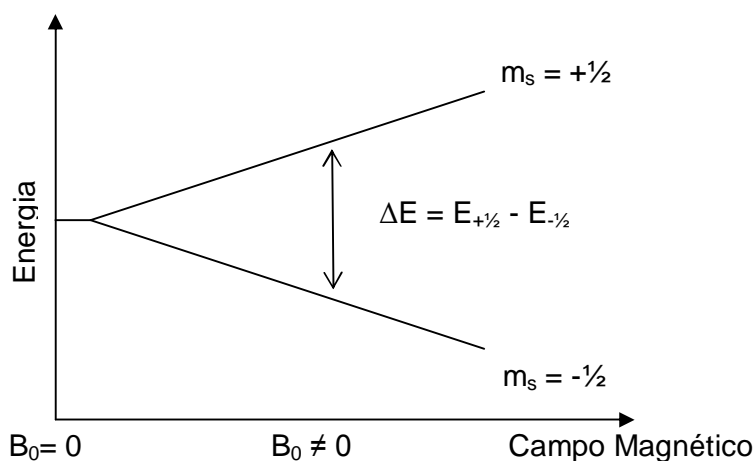


FIGURA 11 - TRANSIÇÃO DE EPR PARA SISTEMA DE $S = \frac{1}{2}$

A energia magnética é dada pela equação (1), na qual E é a energia magnética, μ é a magnitude do momento dipolo magnético, B_0 , é a magnitude do

campo magnético aplicado e θ é o ângulo entre o momento magnético e o campo externo aplicado.

$$E = -\mu B_0 \cos(\theta) \quad (1)$$

Os dois estados são definidos pela projeção do spin do elétron na direção do campo magnético. Como o elétron é uma partícula de spin $\frac{1}{2}$, a diferença de energia entre o estado paralelo e o antiparalelo é definida pela equação (2), na qual g_e é o chamado fator g e μ_B é o magnéton de Bohr.

$$\Delta E = g_e \mu_B B_0 \quad (2)$$

Ao submeter à radiação eletromagnética de comprimento de onda adequado uma amostra que tenha um elétron desemparelhado e seja exposta a um campo magnético, a absorção de radiação com o comprimento de onda adequado provoca a transição dos elétrons desemparelhados entre os dois níveis de energia, do nível de menor, $m_s = -\frac{1}{2}$, ao de maior energia, $m_s = +\frac{1}{2}$. Quando a diferença de energia induzida pela interação magnética entre os dois estados é igual à energia do fóton, pode ocorrer a absorção de um fóton, o que caracteriza o estabelecimento de um estado de ressonância.

A absorção ou emissão de energia eletromagnética (ϵ) (produto da frequência da luz utilizada (ν) e a constante de Plank (h)) é representada pela equação (3):

$$\epsilon = h\nu \quad (3)$$

Combinando as equações (2) e (3), obtém-se a equação fundamental da espectroscopia em EPR:

$$h\nu = g_e \mu_B B_0 \quad (4)$$

Experimentalmente, a equação (4) permite uma grande combinação de valores de frequência e campo magnético, mas a grande maioria das medições de

EPR é feita com micro-ondas na região de 9 a 10 GHz, com campos correspondentes a cerca de 3500 Gauss, ou 0,35 Tesla.

Os sinais de EPR podem ser gerados mantendo a frequência de radiação eletromagnética constante e fazendo a varredura do campo magnético. Também é possível fazer o inverso, ou seja, obter espectros a diferentes frequências mantendo fixa a intensidade de campo magnético (como é feito na espectroscopia de RMN). Por razões de ordem técnica, a forma mais frequente de medir EPR é a primeira. Isto significa que os espectrômetros de EPR são construídos de forma a ter uma fonte de radiação eletromagnética de frequência fixa e ímãs que possibilitam a variação da intensidade do campo magnético (dentro de determinados limites). O espectro resultante geralmente é apresentado como a primeira derivada do espectro de absorção, tendo a intensidade do campo magnético no eixo das abscissas (eixo dos x) e a intensidade do sinal resultante no eixo das ordenadas (eixo dos y), como pode ser visto na FIGURA 12 [59,61].

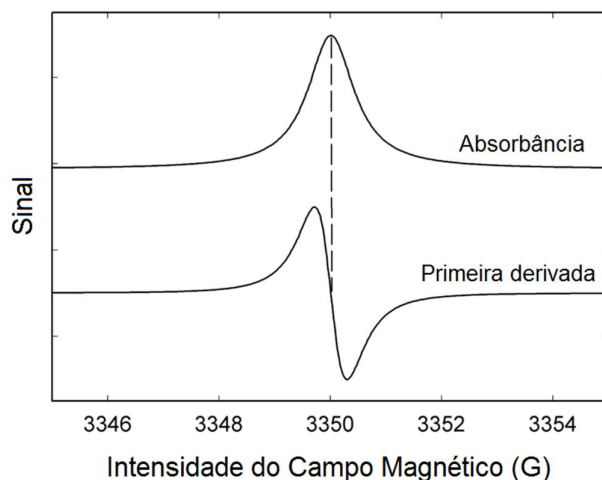


FIGURA 12- ESPECTROS DE EPR MOSTRANDO O GRÁFICO RELATIVO À VARIAÇÃO NA ABSORBÂNCIA, E O DA SUA PRIMEIRA DERIVADA, MAIS COMUMENTE UTILIZADO NOS ESTUDOS COM EPR

Um elétron livre, ou seja, teoricamente não influenciado por qualquer fator externo, tem um valor g_e igual a 2,0023 [62]. O valor exato de g , que, diferente de g_e , considera todos os envoltimentos magnéticos do elétron na molécula, depende muito do ambiente local do elétron desemparelhado. Isso significa que a frequência exata da ressonância de absorção depende da molécula específica em estudo. Como os núcleos também têm spin existe uma interação, ou acoplamento, entre o

spin dos elétrons desemparelhados e o momento angular de spin nuclear, chamado I .

Para um átomo de spin nuclear I , o espectro consistirá de linhas igualmente espaçadas, em quantidade determinada pela equação (5). Tomando como exemplo o nitrogênio, que possui $I=1$, o espectro irá apresentar 3 linhas, para um átomo com spin nuclear igual a zero apresenta uma única linha de absorção (FIGURA 13a).

$$N = 2 \cdot I + 1 \quad (5)$$

Quando o espectro é referente a uma molécula com um conjunto de n núcleos equivalentes (no mesmo ambiente químico), tendo a mesma quantidade de interação com o elétron desemparelhado (mesmo I), o número de linhas do espectro é dado pela equação (6):

$$N = 2 \cdot (n \cdot I) + 1 \quad (6)$$

O valor N representa também o número de orientações possíveis do spin nuclear total de uma molécula. Cada orientação interage de maneira diferente com um elétron desemparelhado, esta interação é chamada de acoplamento hiperfino (A). A intensidade de acoplamento é medida pela constante de acoplamento hiperfino, que no espectro de EPR representa a distância entre os picos (ou linhas) do espectro, e é útil, pois permite identificar a natureza dos radicais formados (junto com o fator g), além de indicar de que átomo ou átomos o elétron desemparelhado está mais próximo. A FIGURA 13b ilustra esse caso, onde um elétron em um átomo com spin nuclear diferente de zero apresenta múltiplas absorções por causa da interação do spin do elétron com o spin nuclear; nesse caso, o elétron está em um átomo com $I = \frac{1}{2}$. Outro exemplo é radical metil, $\text{CH}_3\bullet$. O núcleo do isótopo 12 do carbono tem $I = 0$ e, portanto, não contribui para o desdobramento hiperfino do EPR e cada um dos três átomos de hidrogênio tem $I = \frac{1}{2}$, sendo que as contribuições possíveis dos spins nucleares M_I são: $+\frac{3}{2}$ (todos os três spins nucleares na direção $+\frac{1}{2}$), $+\frac{1}{2}$, $-\frac{1}{2}$ e $-\frac{3}{2}$ (todos os três spins nucleares na direção $-\frac{1}{2}$). E de acordo com a equação (6), na qual $(n \cdot I) = 3 \cdot \frac{1}{2}$, são esperadas quatro linhas com intensidades diferentes no espectro de EPR, como pode ser observado na FIGURA 13c.

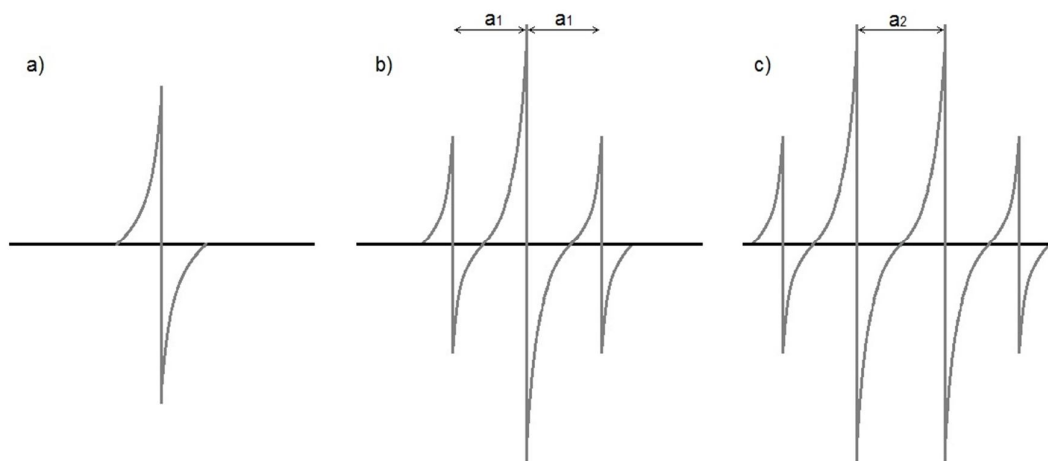


FIGURA 13- SIMULAÇÃO DO ESPECTRO EM EPR (a) PARA UM ÁTOMO COM SPIN $I = 0$, (b) QUANDO HÁ A INTERAÇÃO ENTRE DOIS NÚCLEOS, PARA $I = \frac{1}{2}$ E CONSTANTE DE ACOPLAMENTO HIPERFINO a_1 , E (c) DO RADICAL CH_3 COM CONSTANTE DE ACOPLAMENTO HIPERFINO a_2

2.7 MÉTODO DO 2,2-DIFENIL-1- PICRILHIDRAZILA (DPPH)

O método de espectroscopia de ultravioleta-visível foi desenvolvido por Brand-Willams *et al.* (1995) [63] e é baseado na redução da absorbância na região visível, de comprimento de onda de 515 nm, do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) por antioxidantes. É um dos métodos mais utilizados para avaliar a atividade antioxidante de compostos através da redução de um radical livre orgânico, neste caso, o DPPH [41,63,64].

O DPPH é um radical livre que é reduzido ao receber um átomo de H^\bullet (radical hidrogênio) de uma substância doadora (o antioxidante), tornando-se uma molécula estável quanto a sua capacidade de oxidar outros compostos (FIGURA 14FIGURA 14). Este radical possui cor violeta, em solução, e muda para amarelo ao ser reduzido, proporcionalmente à concentração da substância redutora da amostra. E quanto mais eficiente for a substância antioxidante, mais rápida e acentuada será essa descoloração. Além disso, a mudança de aspecto é facilmente detectável, o que torna este método simples e prático [65].

O resultado pode ser expresso em IC_{50} , que é a concentração do antioxidante necessária para reduzir em 50% o radical DPPH. Assim, quanto menor o IC_{50} , maior a atividade antioxidante, ou poder antirradicalar do material em estudo.

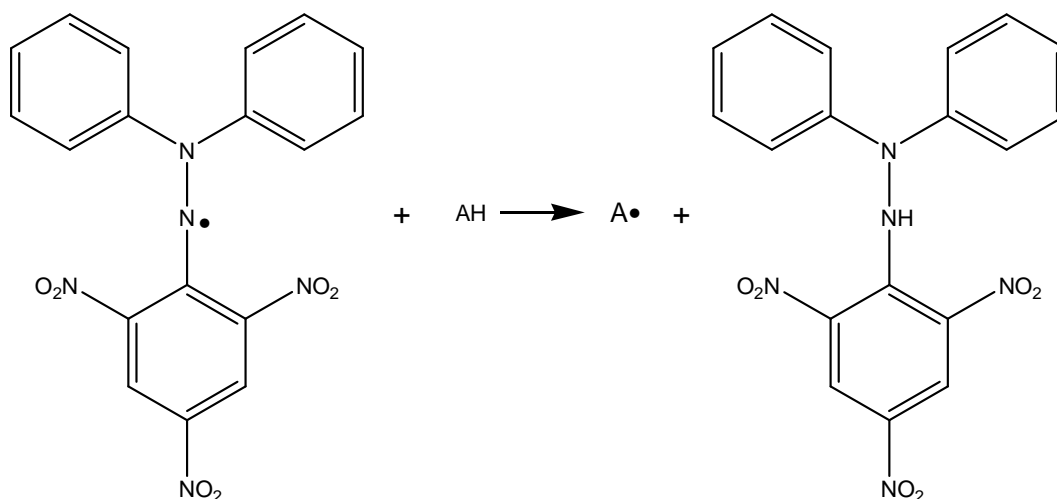


FIGURA 14 - ESTRUTURA DO DPPH ANTES E DEPOIS DA REAÇÃO COM O ANTIOXIDANTE (AH) [64]

Nesse método, a eficiência antioxidante é medida à temperatura ambiente ($\pm 23^\circ\text{C}$), o que elimina o risco de degradação térmica das moléculas testadas. No entanto, o mecanismo reacional entre o antioxidante e o DPPH^\bullet depende da conformação estrutural do antioxidante. Foram propostas modificações das condições de operação, a fim de adaptar o método para a cinética de cada caso [63]. Alguns compostos reagem de forma muito rápida com DPPH^\bullet , reduzindo um número de moléculas igual ao número de grupos hidroxila disponível, formando as correspondentes quinonas. No entanto, para a maioria dos compostos, as reações são mais lentas e os mecanismos parecem ser mais complexos [21,66].

2.8 MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA

A estabilidade à oxidação do biodiesel está relacionada ao tempo máximo de armazenamento antes que a sua degradação atinja um estado tão elevado a ponto de impossibilitar a sua utilização, sendo a sua estabilidade oxidativa um parâmetro crítico para a sua comercialização. Para isso foram estabelecidas especificações de análises, com a finalidade de determinar teores limites dos contaminantes que não venham a prejudicar a sua qualidade, assegurando um combustível com

desempenho adequado no motor e que preserve a sua integridade contra possíveis degradações durante o período de estocagem [67].

O processo de oxidação natural é um fenômeno lento que se desenvolve ao longo do tempo, tornando as análises de estabilidade em tempo real ineficazes para o controle de qualidade industrial [68]. Por isso são utilizados métodos acelerados de medida da estabilidade oxidativa com o intuito de predizer o tempo máximo de armazenamento do biodiesel, sem que a sua qualidade seja comprometida.

Nos testes de oxidação acelerada, o combustível é colocado em condições extremas, quando são aplicadas altas temperaturas, presença de um gás oxidante (oxigênio ou ar sintético), ou a combinação desses dois fatores, aumentando a velocidade de reação de oxidação do biodiesel, o que torna a determinação da sua estabilidade oxidativa muito mais rápida [48,68].

Vários testes acelerados foram desenvolvidos ou adaptados a partir de métodos similares aos utilizados em outros setores industriais (óleos, gorduras, lubrificantes) para medir os vários fatores associados com a estabilidade oxidativa e térmica do biodiesel. Atualmente os métodos baseados em medidas de condutividade elétrica são os mais empregados para a avaliação da estabilidade oxidativa, sendo o teste Oil Stability Index (OSI) o mais utilizado, no qual são avaliados os produtos secundários de oxidação (ácidos e outros produtos de oxidação voláteis) [67]. De acordo com as normas da ANP [5], a determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel baseia-se neste teste (OSI), sendo realizada segundo a norma EN 14112 [69] que estabelece para a análise da estabilidade à oxidação o equipamento Rancimat, conforme descrito no item 2.8.1 [7,37,70].

2.8.1 Método Rancimat

O método Rancimat expressa a estabilidade à oxidação do material testado em termos de um período de indução para a produção de ácidos orgânicos voláteis, que são subprodutos de degradação oxidativa do éster de ácido graxo, pelo calor e oxigênio [5,71]. A FIGURA 15 mostra uma foto do equipamento utilizado (873 Biodiesel Rancimat, à esquerda) e o seu esquema de funcionamento (à direita) [71].

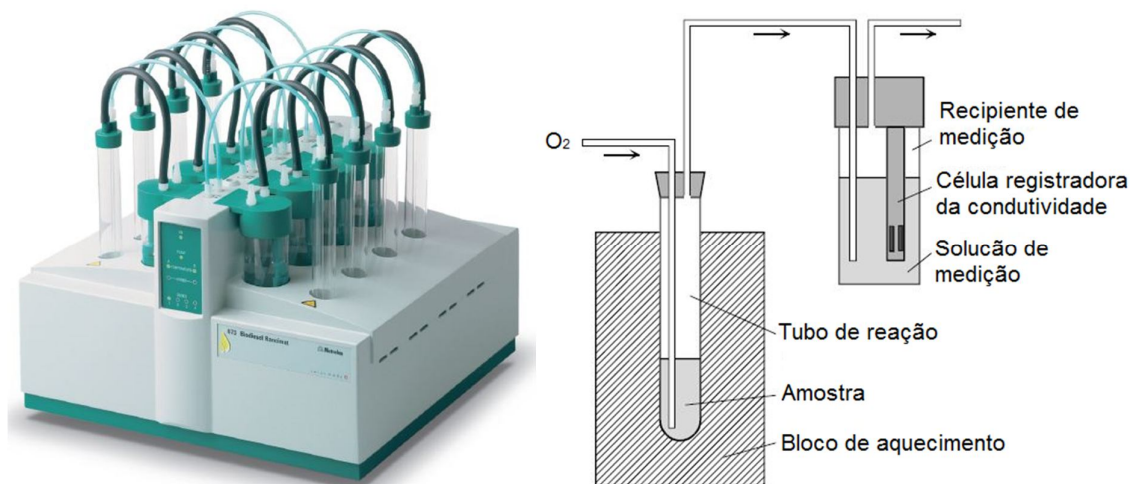


FIGURA 15 - APARELHO RANCIMAT (METHROM), À ESQUERDA, E À DIREITA, O SEU ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO.

Neste procedimento, três gramas de amostra são aquecidas através do contato do tubo de reação com o bloco de aquecimento, o qual mantém a temperatura fixa em 110 °C, enquanto um fluxo de ar passa através da amostra a uma taxa constante ($10 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$), o que provoca a aceleração da oxidação do biodiesel. Nesse processo de oxidação, os ésteres metílicos de ácidos graxos da amostra são oxidados a peróxidos, como produtos de oxidação primários. Após algum tempo, os ácidos graxos são completamente decompostos, formando os produtos de oxidação secundários. Os compostos voláteis formados são ácidos orgânicos de baixo peso molecular, principalmente ácido fórmico e ácido acético. Através do fluxo de ar, esses compostos são transportados para a célula de medição onde são absorvidos pela solução de medição (água destilada). A condutividade da água é continuamente monitorada; assim que os ácidos carboxílicos voláteis são formados na amostra e arrastados pelo fluxo de ar para a célula de condutividade do equipamento, há um aumento abrupto da condutividade elétrica na solução da célula [18,71].

O tempo decorrido até que os produtos de oxidação secundários sejam detectados é conhecido como índice de estabilidade à oxidação ou tempo de indução (TI) e é determinado em horas [48,71]. Um TI maior do que 6 horas, como determinado pelo Método de Rancimat a 110°C, poderia garantir um ano e meio de armazenagem do biodiesel à temperatura ambiente.

A FIGURA 16a mostra o gráfico gerado pelo equipamento - condutividade *versus* tempo - a partir do qual se obtém o valor do índice de estabilidade oxidativa,

caracterizado pelo ponto de inflexão da curva, como é calculado pelo programa, ou então pode ser determinado manualmente pela interseção de duas retas tangentes à curva de medida da condutividade elétrica, uma antes e outra depois de ocorrida a variação na condutividade (FIGURA 16b) [71].

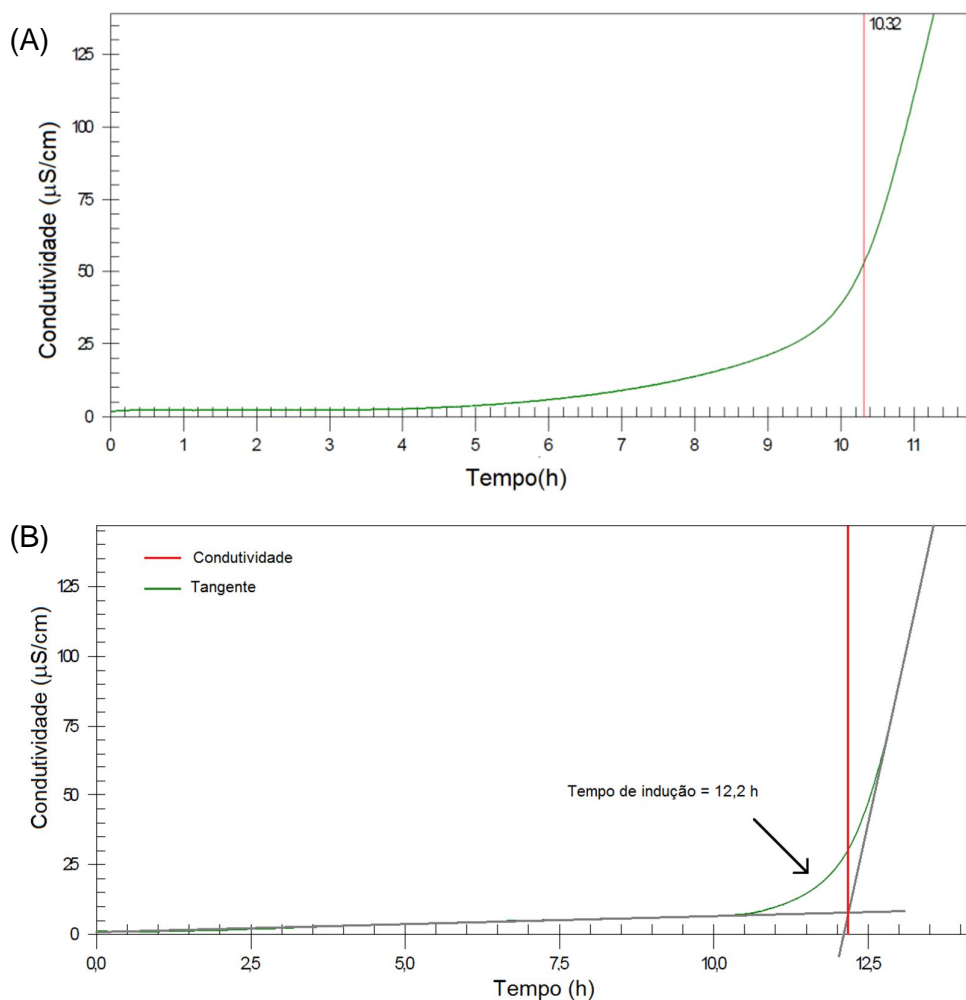


FIGURA 16-(A) CURVA GERADA DURANTE A ANÁLISE. A RETA VERMELHA INDICA O LIMITE DO PERÍODO DE INDUÇÃO E É AUTOMATICAMENTE GERADA PELO SOFTWARE DO EQUIPAMENTO. (B) DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE INDUÇÃO ATRAVÉS DA INTERSEÇÃO DE DUAS RETAS TANGENTES À CURVA

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1. Biodiesel

O biodiesel utilizado neste trabalho foi adquirido da empresa BSBios, fabricado a partir de metanol e óleo de soja. Na TABELA 4 são apresentados os resultados das análises de caracterização do biodiesel, realizadas no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUTets/UFPR), de acordo com a resolução da ANP Nº 7, DE 19.3.2008 [5].

TABELA 4 - RESULTADO DE ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL UTILIZADO

Parâmetros	Resultado	Limite	Unidade	Métodos
Aspecto	Límpido e isento de impurezas	-	-	Visual
Cor	Amarelo	-	-	Visual
Massa específica a 20°C	880,7	850 a 900	kg/m ³	ASTM D 4052
Viscosidade	4,3332	3,0 a 6,0	mm ² /s	ASTM D 445
Teor de água, máx.	347,3	500 máx.	mg/kg	ASTM D 6304
Contaminação total, máx.	0,112	24 máx.	mg/kg	EN/ISO 12662
Ponto de fulgor	153,5	100,0 mín.	°C	ASTM D 93
Teor de éster	96,8	96,5mín.	% massa	EN 14103
Resíduo de carbono (Método micro)	0,035	0,050 máx.	% massa	ASTM D 4530
Traços de enxofre por fluorescência	8,191	50 máx.	mg/kg	ASTM D 5453
Sódio	1,8324	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Potássio	0	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Cálcio	0,0799	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Corrosividade ao cobre	1a	1 máx.	-	ASTM D 130
Número Cetano Derivado	53,8	-	DCN	ASTM D 6890
Ponto de entupimento de filtro a frio	-2,0	19 máx.	°C	NBR 14747
Índice de acidez	0,41	0,50 máx.	mg KOH/g	NBR 14448
Glicerol livre	0,02	0,02 máx.	% massa	EN 14105
Glicerol total	0,25	0,25 máx.	% massa	EN 14105
Monoacilglicerol	1,12	Anotar	% massa	EN 14105
Triacilglicerol	0,07	Anotar	% massa	EN 14105
Metanol e/ou Etanol	0,06	0,20 máx.	% massa	EN 14110
Índice de Iodo	0,1400	Anotar	g/100g	EN 14111
Estabilidade à oxidação	13,09	6 mín.	horas	EN 14112
Diacilglicerol	0,42	Anotar	% massa	EN 14105

3.1.2. Compostos antioxidantes: Redoxomas

Todos os compostos testados como antioxidantes nesse estudo foram sintetizados no Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense pelo grupo do Professor Dr. Vitor Francisco Ferreira, fazem parte do projeto Redoxoma, e tem suas estruturas básicas iguais (FIGURA 17), o que os diferenciam são os substituintes na posição quatro da cadeia cíclica principal.

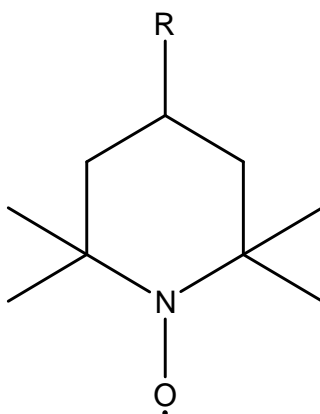


FIGURA 17 - ESTRUTURA BÁSICA DAS REDOXOMAS TESTADAS (1-OXIL-2,2,6,6-TETRAMETIL-4-(*R*)PIPERIDINA)

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Determinação da capacidade antioxidante das Redoxomas

3.2.1.1 Espectroscopia de EPR

Para as medidas de EPR, foram feitas soluções metanólicas das redoxomas e do padrão DPPH. Decidiu-se utilizar o metanol, pois todas as redoxomas são solúveis nele, ao contrário do etanol, sendo que a solução de DPPH também foi feita em metanol para evitar interferência do solvente. O metanol usado foi Metanol P.A. ACS da VETEC. As concentrações utilizadas foram de 0,1 mg/mL e 1 mg/mL, para as soluções metílicas das redoxomas e do DPPH, respectivamente. Essas concentrações foram determinadas através de testes preliminares em EPR, onde foi

avaliada a menor concentração na qual era possível obter um sinal de EPR de qualidade, com pouco ruído.

A partir dessas soluções, foram feitas misturas das soluções de DPPH/redoxoma, para cada redoxoma, todas nas proporções de 1:1 em volume. Cada mistura foi colocada em capilar Hirschmann de volume de 50 μL , cujas extremidades foram adequadamente fechadas. Esses capilares fechados foram inseridos, um por vez, em tubo de quartzo de 3 mm de diâmetro interno, que foi colocado em altura padrão, na cavidade de amostras do espectrômetro de EPR para a análise. Para cada teste, foram feitas 10 medidas no período de um mês. As análises foram feitas em espectrômetro Bruker EMX operando em banda-X (~ 9,5 GHz) (DQ/UFPR).

Foram feitas medidas de referência para identificar os espectros das redoxomas e do DPPH, a cada medida da solução redoxoma/DPPH. Essas soluções de referência foram preparadas a partir das soluções iniciais de redoxoma e DPPH (0,1 mg/mL e 1 mg/mL, respectivamente) e metanol, em proporções de 1:1 em volume.

3.2.1.2 Espectroscopia de UV-Vis

- Determinação da curva do DPPH

Para a determinação da curva de calibração de DPPH, foi preparada uma solução metanólica de DPPH 60 μM a qual foi diluída em concentrações variando de 10 μM a 50 μM e armazenadas em frasco âmbar.

Foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515 nm para cada concentração, utilizando álcool metílico como branco para calibrar o espectrofotômetro. Essas medidas foram feitas em triplicata. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC (DQ/UFPR).

A curva do DPPH foi construída com os valores das concentrações de DPPH (μM) no eixo x e as respectivas absorbâncias no eixo Y, e então foi determinada a equação da reta através do programa OriginPro.

- *Atividade antioxidante das redoxomas*

A uma fração de 3 mL da solução de cada redoxoma a 50 µg/mL em metanol p.a. foi adicionado 0,1 mL de DPPH a 1 mM. As amostras homogeneizadas foram submetidas a leituras no instante em que foram colocadas no porta cubeta do espectrofotômetro e a cada 5 minutos. Apenas para efeito de comparação com os dados obtidos em EPR, nesse primeiro teste, feito com todas as redoxomas, as medidas foram feitas por 30 minutos, com intervalo de 5 minutos entre cada uma. Após essa primeira avaliação, as redoxomas que eliminaram mais rapidamente o sinal do DPPH•, foram submetidas a uma nova avaliação com leituras feitas até a total estabilização do resultado.

Foram preparadas soluções metanólicas das redoxomas nas concentrações de 20 a 60 µM. A 3 mL de cada solução foi adicionado 0,1mL de DPPH a 1 mM. Como controle foi utilizado 3 mL de metanol e 0,1 mL de DPPH. As leituras foram feitas no instante em que foi feita a mistura e após 30 minutos [66]. A determinação do IC₅₀ foi feita através da fórmula expressa na equação (7) e com os valores obtidos foi construído um gráfico de % Atividade antioxidante *versus* concentração (µg/mL).

$$\% \text{ Atividade Antioxidante} = 100 - \frac{(\text{Absorbância}_{\text{Amostra}} - \text{Absorbância}_{\text{Branco}}) \cdot 100}{\text{Absorbância}_{\text{Controle}}} \quad (7)$$

Para o cálculo do IC₅₀ foi utilizada a equação da reta obtida para cada redoxoma, substituindo o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir em 50% a quantidade de DPPH na solução inicial. O poder antioxidante é obtido a partir do valor do IC₅₀, como demonstrado na equação (8) [63]. A concentração do DPPH remanescente em cada solução foi calculada através da curva de calibração de DPPH.

$$IC_{50} = \frac{1}{\text{Poder antirradical}} \quad (8)$$

3.2.2 Avaliação da estabilidade à oxidação do biodiesel

Os testes em Rancimat foram baseados num estudo prévio, desenvolvido por Martyak *et al.* [72], sobre a influência de um nitróxido sequestrante de radicais livres e de pelo menos um alquilalcanolaminana estabilidade oxidativa do biodiesel. Neste estudo, a substância utilizada como sequestrante de radicais livres foi o TEMPOL, que corresponde a redoxoma 01, e a alquiletanolamina foram o butildietanolamina (BDEA) e o octildietanolamina (ODEA).

Esse teste foi realizado utilizando o equipamento Rancimat, e devido ao longo tempo de duração de cada rodada de avaliação, foram selecionadas quatro redoxomas dentre aquelas mais eficientes avaliadas em UV-Vis, para esse teste.

Seguindo um estudo prévio [72], para adicioná-las ao biodiesel, as redoxomas foram diluídas em N-Butildietanolamina(BDEA), a $\geq 98.6\%$ da Sigma Aldrich. No primeiro teste realizado, visando analisar a eficiência de cada redoxoma, além da sua interação com o solvente (BDEA), foram preparadas as soluções como descrito na TABELA 5, sendo que essas misturas sempre eram feitas um dia antes da realização do teste no Rancimat. As concentrações utilizadas foram baseadas no trabalho de MARTYAK *et al.*[72] que estudou o efeito da adição de tempol dissolvido em etanolaminas na estabilidade oxidativa do biodiesel.

TABELA 5 - MISTURAS BIODIESEL/REDOXOMAS/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE NO RANCIMAT

Mistura	Biodiesel (g)	Redoxoma (ppm)	BDEA (ppm)
1	100	50	0
2	100	25	475
3	100	0	450

O segundo teste realizado no Rancimat visou analisar a influência da concentração dos aditivos na estabilidade à oxidação do biodiesel. Para esse teste, as concentrações testadas são mostradas na TABELA 6. Os valores dessas concentrações foram estipulados com base nas concentrações utilizadas na trabalho de MARTYAK *et al.* [72] de forma que a quantidade total não ultrapassasse o valor máximo permitido pela ANP que é de 500 ppm, pois acima desse valor já é considerado componente do combustível, não mais aditivo.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DA MISTURA BIODIESEL/REDOXOMA/BDEA PARA O SEGUNDO TESTE NO RANCIMAT

Mistura	Biodiesel (g)	Redoxoma (ppm)	BDEA (ppm)
1	100	100	400
2	100	50	450
3	100	25	475

O aparelho Rancimat tem a capacidade de realizar 8 testes ao mesmo tempo, sendo que sempre eram reservados dois tubos reacionais para o biodiesel puro, utilizado como um branco.

Para uma melhor diluição, primeiramente a redoxoma era misturada com o BDEA, e após a sua homogeneização era então adicionada ao biodiesel.

Os ensaios de estabilidade oxidativa realizados no equipamento Rancimat, feitos no mínimo em duplicata, foram realizados no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUTets/UFPR).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESPECTROSCOPIA DE EPR

Antes de analisar os espectros das soluções da mistura redoxoma/DPPH é preciso identificar os espectros de cada um separadamente. Os espectros característicos das soluções de referência das redoxomas e do DPPH são apresentados na FIGURA 18. Pode-se perceber que são apresentados apenas um espectro de uma redoxoma e um de uma solução de DPPH, pois todas as redoxomas apresentaram espectros semelhantes, variando apenas a intensidade do sinal, assim como para as soluções de DPPH.

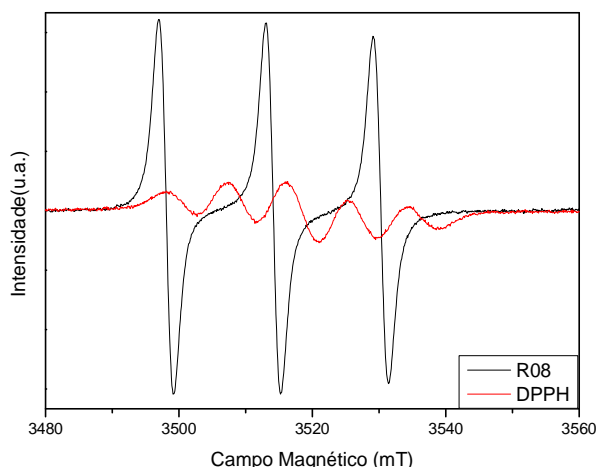


FIGURA 18- ESPECTRO CARACTERÍSTICO DAS REDOXOMAS COM 3 LINHAS, DEVIDO À PROXIMIDADE DO RADICAL LIVRE A UM ÁTOMO DE ^{14}N E DO DPPH COM 5 LINHAS, DEVIDO À PROXIMIDADE DO RADICAL LIVRE A DOIS ÁTOMOS DE ^{14}N .

Como discutido no item 2.6, o número de linhas de um espectro pode indicar de qual átomo o elétron desemparelhado está mais próximo. No caso das redoxomas, os espectros apresentam a mesma forma, com 3 linhas. Como para esses compostos (FIGURA 17) o elétron desemparelhado está entre um átomo de nitrogênio ($I=1$) e um de oxigênio ($I=0$), pode-se concluir que ele está interagindo com o núcleo do nitrogênio, pois de acordo com a equação (5), para um número de

linhas igual a 3, de mesma intensidade, o número de spin nuclear do átomo mais próximo deve ser igual a 1 [73].

Como se vê no espectro característico das redoxomas representados na FIGURA 18 pela redoxoma R08, as três linhas possuem a mesma intensidade, pois o elétron desemparelhado está próximo de um núcleo de ^{14}N , $I = 1$. Já no caso do DPPH, tem-se o elétron desemparelhado próximo, a igual distância, de dois núcleos de ^{14}N . Esses dois núcleos vão interagir com o elétron desemparelhado, causando um desdobramento nas linhas, a FIGURA 19 mostra um esquema de como acontece esse desdobramento. A interação com um dos nitrogênios resulta em três linhas de mesma intensidade. O primeiro conjunto de três barras, de cima para baixo, representa as três linhas do espectro para um dos átomos de ^{14}N . Os outros três conjuntos, de três linhas cada um, representam a interação magnética do segundo ^{14}N com cada uma das linhas do primeiro ^{14}N . Os números na base da figura representam as intensidades das linhas, umas em relação às outras. Isto pode ser constatado no espectro do DPPH da FIGURA 18 [74].

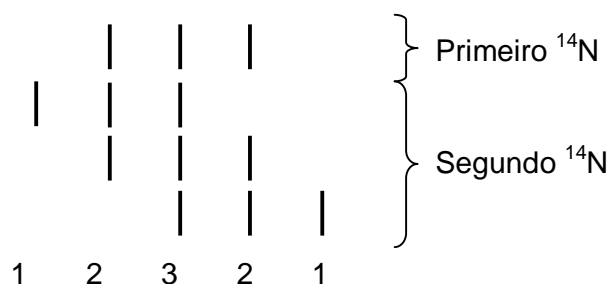


FIGURA 19 - DESDOBRAMENTO DAS LINHAS DO DPPH, REPRESENTADO POR BARRAS VERTICAIS, PARA O ELÉTRON DESEMPARELHADO A IGUAL DISTÂNCIA DOS DOIS NÚCLEOS DE ÁTOMOS DE ^{14}N

O resultado da avaliação da interação entre o DPPH e as redoxomas com o tempo está ilustrado nas FIGURAS 20 a 37. As medidas foram realizadas no intervalo de um mês. Neste trabalho foram selecionados apenas os espectros relevantes, ou seja, aqueles onde há uma variação considerável no formato e na intensidade do sinal do DPPH, pois em alguns casos, a partir da segunda medida não houve alteração nenhuma. É válido ressaltar ainda, que o estudo foi feito com base na variação do sinal do DPPH, visto que os formatos dos sinais das redoxomas não mudam em função da estrutura de cada composto, mantendo somente o número de três linhas de absorção.

Os espectros referentes às redoxomas, como já foi explicado, são aqueles com três linhas estreitas e mais intensas. A perturbação que há entre essas linhas é devido ao espectro resultante da reação da redoxoma com parte do DPPH presente.

A redoxoma que eliminou mais rapidamente o sinal do DPPH foi a redoxoma 02, como pode ser visto na FIGURA 21. Não há sinal da presença do radical DPPH• em nenhuma medida, evidenciando que a ação da redoxoma em eliminar os elétrons desemparelhados do DPPH foi praticamente instantânea. Entretanto, percebe-se que há uma diminuição do sinal da redoxoma até o terceiro dia; depois ele fica mais intenso e se estabiliza. Esse aumento no sinal aparece em muitas outras redoxomas e duas hipóteses foram cogitadas para explicar essa variação. Uma das possibilidades seria a de que nem todas as moléculas da redoxoma presentes na solução fossem radicais livres, ou seja, apresentassem um elétron desemparelhado e, ao reagir com o DPPH• capturando o elétron livre presente nele, passassem a serem radicais livres, aumentando a intensidade do seu sinal no espectro. Outra possibilidade seria a de que a redoxoma estaria atuando como um catalisador para a eliminação do radical livre do DPPH. Seu sinal menos intenso no início seria devido à grande quantidade de DPPH• presente no meio. Conforme os radicais livres de DPPH vão sendo extintos, o sinal da redoxoma começa a se intensificar, pois aumenta a quantidade de redoxoma disponível na solução.

No espectro referente à redoxoma 02 (FIGURA 21) não é possível perceber sinal do DPPH•, o que evidencia o seu total consumo em menos de um dia. Já para as redoxomas 01 (FIGURA 20), 17 (FIGURA 35), 18 (FIGURA 36) e 19 (FIGURA 37) há um sinal de DPPH• bem fraco, apenas no espectro referente à primeira medida, sendo a redoxoma 01 a que tem o menor sinal inicial. A partir da segunda medida ele já não pode mais ser observado e apenas a intensidade do sinal da redoxoma varia.

Nas redoxomas 06 e 07 (FIGURAS 24 e 25, respectivamente) observa-se o sinal do DPPH• mais intenso na primeira medida, sendo praticamente eliminado a partir da segunda medida, no dia seguinte, onde se percebe uma perturbação bem fraca entre as três linhas referentes às redoxomas. Nesse caso, a eficácia das redoxomas não foi tão imediata quanto nas discutidas anteriormente e pode-se dizer que a sua ação no combate aos radicais livres foi pior. O ruído presente nesses espectros deve-se ao sinal fraco das soluções, sugerindo que para essas

duas redoxomas a concentração escolhida devesse ser maior que a utilizada. Ainda assim é possível observar bem o comportamento de ambas.

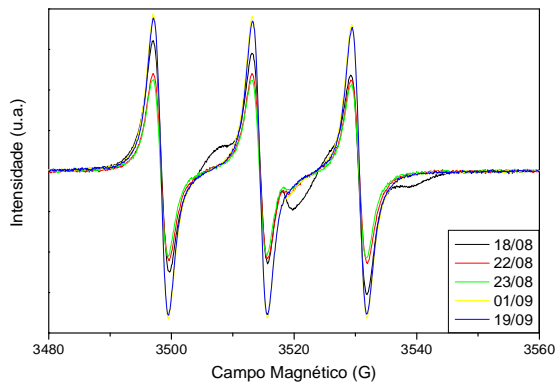


FIGURA 20 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 01 NA PRESENÇA DE DPPH

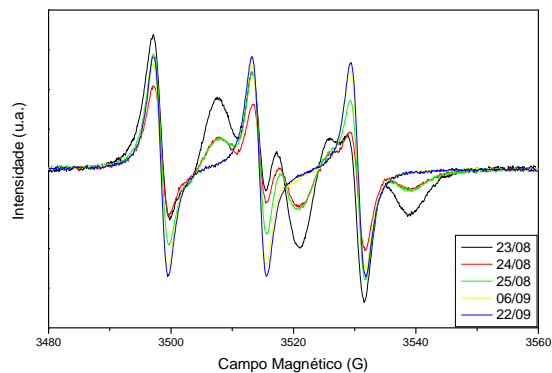


FIGURA 23 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 05 NA PRESENÇA DE DPPH

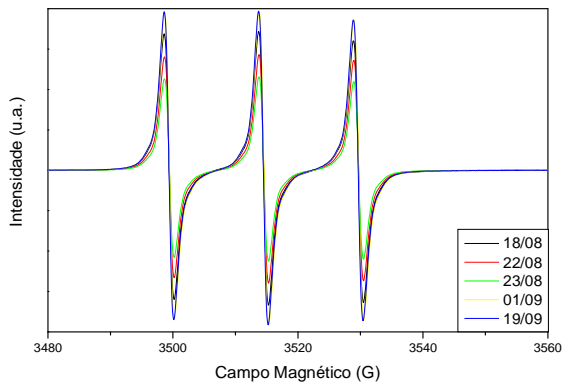


FIGURA 21 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 02 NA PRESENÇA DE DPPH

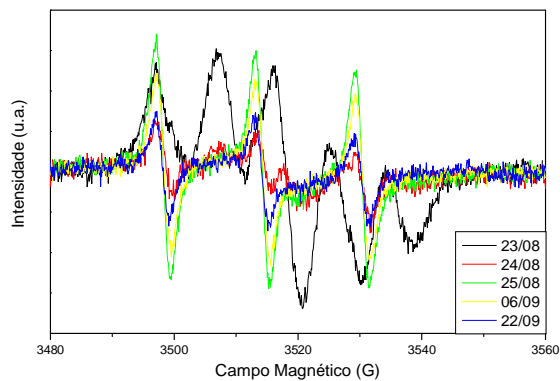


FIGURA 24 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 06 NA PRESENÇA DE DPPH

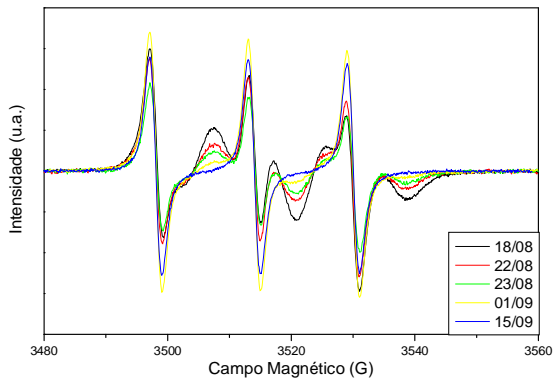


FIGURA 22 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 04 NA PRESENÇA DE DPPH

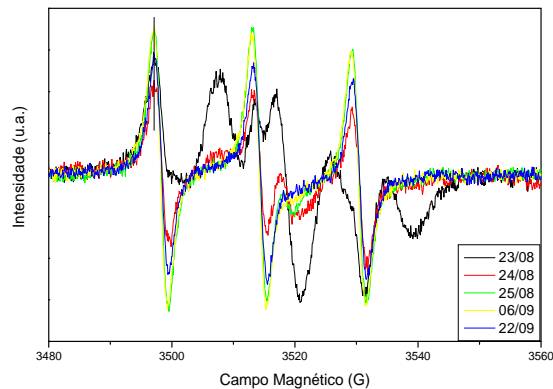


FIGURA 25 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 07 NA PRESENÇA DE DPPH

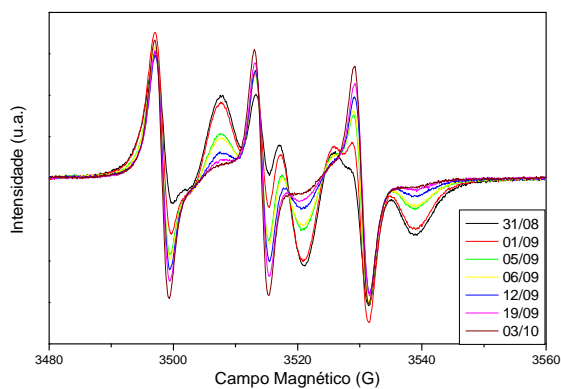


FIGURA 26 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 08 NA PRESENÇA DE DPPH

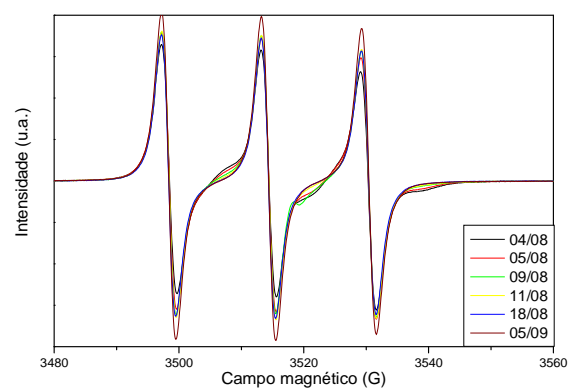


FIGURA 29 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 11 NA PRESENÇA DE DPPH

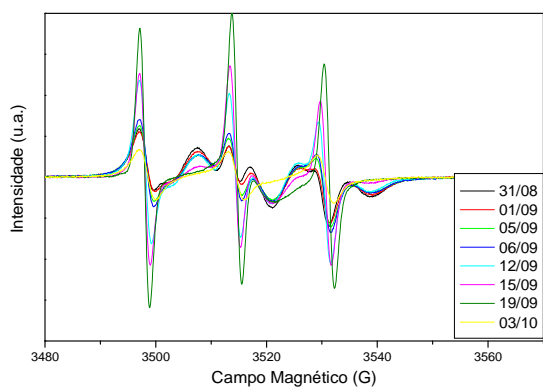


FIGURA 27 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 09 NA PRESENÇA DE DPPH

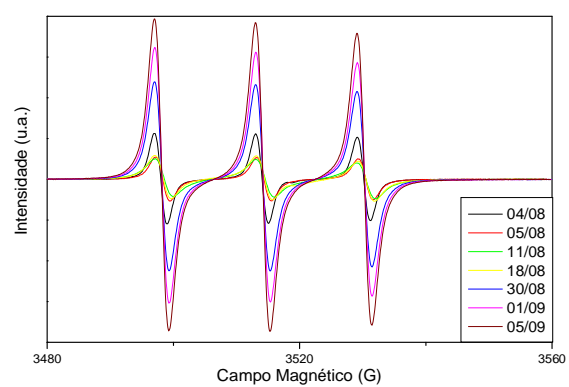


FIGURA 30 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 12 NA PRESENÇA DE DPPH

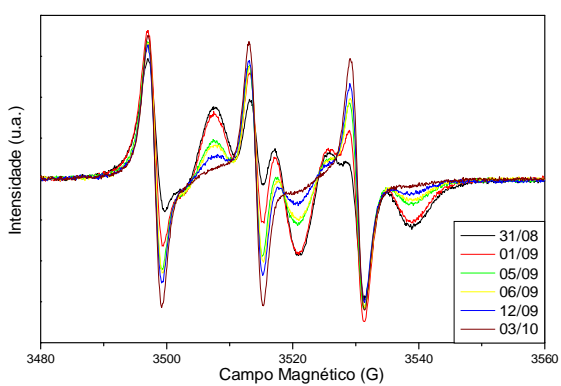


FIGURA 28 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 10 NA PRESENÇA DE DPPH

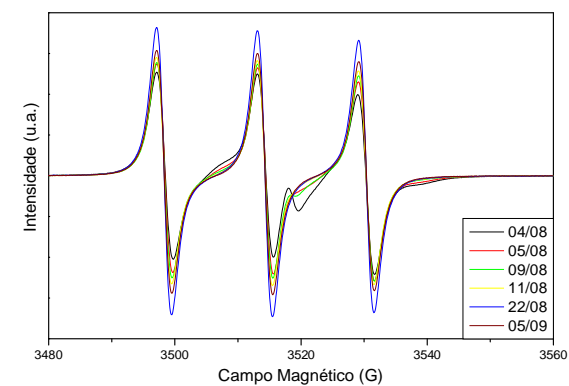


FIGURA 31 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 13 NA PRESENÇA DE DPPH

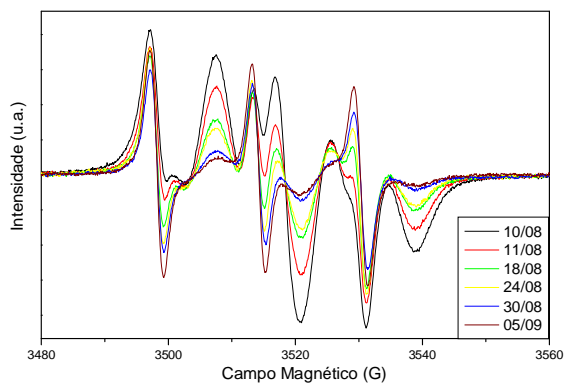


FIGURA 32 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 14 NA PRESENÇA DE DPPH

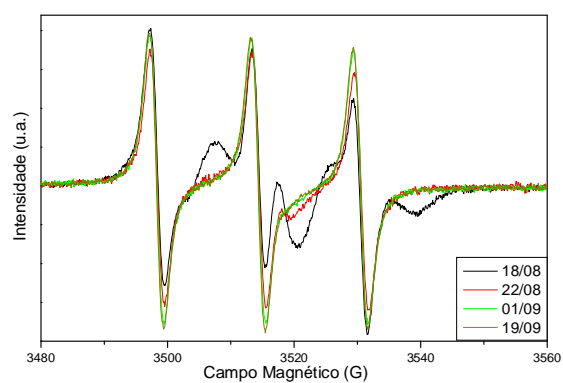


FIGURA 35 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 17 NA PRESENÇA DE DPPH

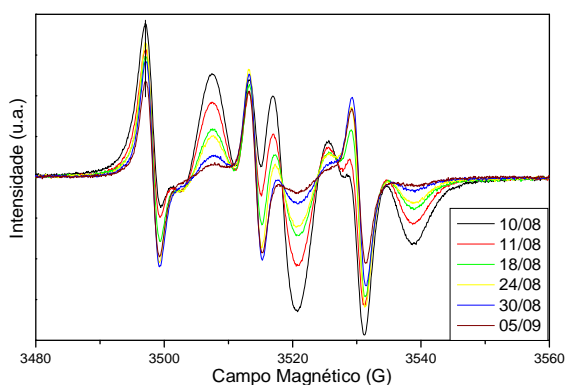


FIGURA 33 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 15 NA PRESENÇA DE DPPH

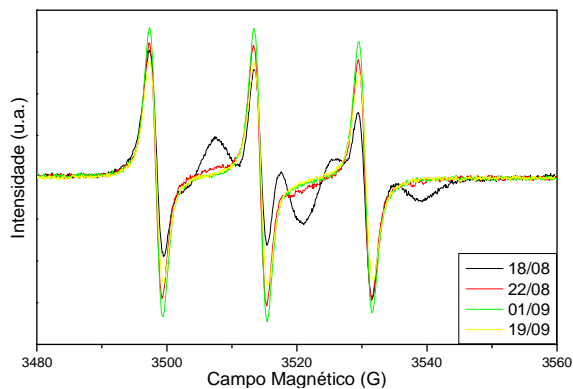


FIGURA 36 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 18 NA PRESENÇA DE DPPH

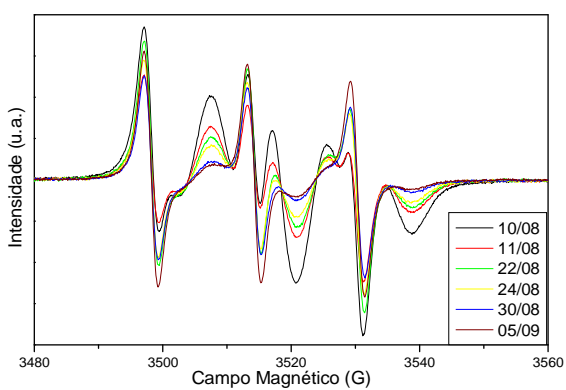


FIGURA 34 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 16 NA PRESENÇA DE DPPH

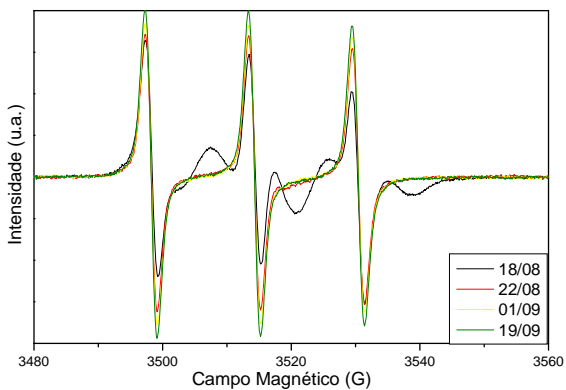


FIGURA 37 - ESPECTRO EM EPR DA REDOXOMA 19 NA PRESENÇA DE DPPH

No caso das redoxomas 11 (FIGURA 29), 12 (FIGURA 30) e 13 (FIGURA 31), o sinal inicial do DPPH• é bem fraco, mas mesmo assim demora a desaparecer. Isso pode ser evidência de que havia uma grande disponibilidade de moléculas de redoxoma na solução em vista da disponibilidade de moléculas de DPPH•, capazes de consumir grande parte do DPPH• logo no início, mas com uma velocidade de reação mais lenta.

As demais redoxomas mostraram um consumo gradual do DPPH•, mas todas elas o consumiram completamente no período de um mês. Colocando-as em ordem da que levou mais tempo para a que levou menos tempo para acabar com o sinal do DPPH•, seria 08 (FIGURA 26), 09 (FIGURA 27), 14 (FIGURA 32), 15 (FIGURA 33), 16 (FIGURA 34), 10 (FIGURA 28), 04 (FIGURA 22) e 05 (FIGURA 23).

A FIGURA 27 mostra que para a redoxoma 09, o sinal de DPPH, assim como o da própria redoxoma, é bem fraco. Entretanto, ao longo do tempo o sinal do DPPH• some e o da redoxoma aumenta, e no fim do período de medição, o sinal da redoxoma volta a ter mesma intensidade inicial.

Um ponto em comum entre as redoxomas que apresentaram a maior velocidade de reação com o DPPH• é a presença de uma hidroxila na posição 4 da cadeia principal. Como a configuração do espectro praticamente não muda, é certo que o elétron desemparelhado continua a mesma distância do átomo de nitrogênio ($A = 16 \text{ G}$; $g = 2,0058$), pois se houvesse alguma interferência ou mudança de local desse elétron livre, deveria haver mudança nos parâmetros do espectro. Isto sugere que a reação da redoxoma com o DPPH• ocorra pelo sequestro do H^\bullet da hidroxila.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS

Devido ao fato do Método do DPPH ser um dos mais utilizados para a determinação da capacidade antioxidante de substâncias, optou-se por realizá-lo para que fosse possível comparar os resultados com ele obtidos e os resultados obtidos por espectroscopia de EPR.

Na FIGURA 38 são mostradas fotos da reação da redoxoma com o DPPH por um período de 42h. Através dessa figura é possível confirmar os obtidos por

EPR e prever os resultados obtidos em UV-Vis. As concentrações utilizadas nesse teste foram as mesmas utilizadas para o teste no espectrofotômetro de UV-Vis.

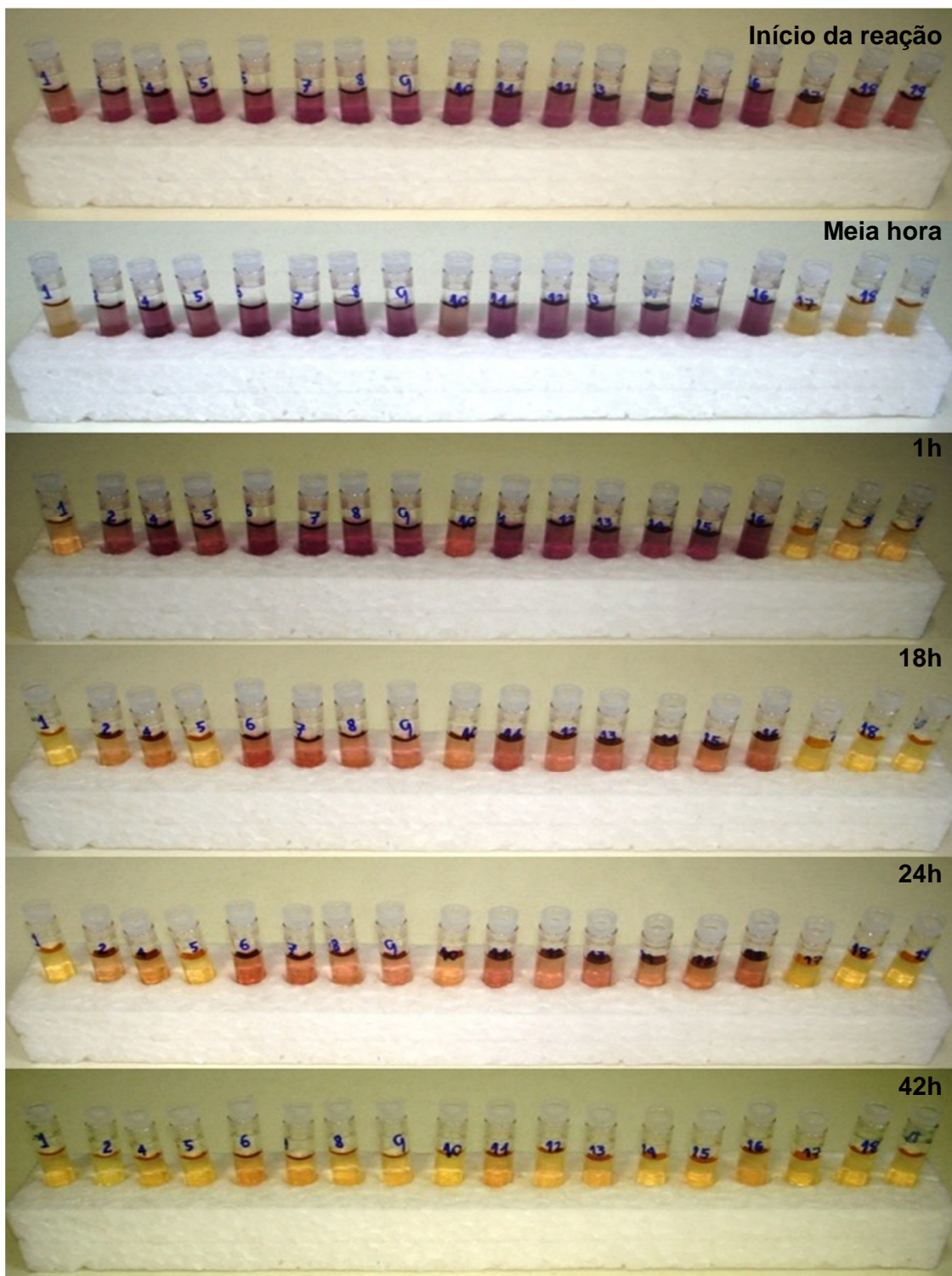


FIGURA 38 - ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO ENTRE AS REDOXOMAS E O DPPH

O DPPH• apresenta-se em solução com cor púrpura, ao reagir com a redoxoma, perdendo a característica de radical livre, a solução vai se tornando amarela. É essa a mudança observada e medida pela espectroscopia de UV-Vis.

Logo no início da reação já é possível perceber que a cor dos recipientes com as redoxomas 01, 17, 18 e 19 possuem uma cor mais clara que os outros. Após meia hora eles já estão bem mais claros, com a cor mais para amarela que para púrpura. Com uma hora de reação essa diferença é bem nítida e a partir desse ponto a cor das soluções com essas redoxomas não se altera mais. Nesse ponto também é possível notar que a solução da redoxoma 10 começa a alterar de cor, ela está levemente mais clara que as outras. Após 18 horas de reação, observa-se que as soluções com as redoxomas 02, 04 e 05 já estão mais amareladas, sinalizando o consumo dos radicais DPPH•. Diferentemente do que ocorreu nos testes em EPR, nos testes em UV-Vis, a redoxoma 02 não se mostrou tão rápida no consumo do DPPH•.

As soluções das demais redoxomas começam a clarear, atingindo o mesmo tom da redoxoma 10, na foto referente à uma hora de reação. Entre 18 e 24 horas não é possível perceber mudanças significativas, e com 42 horas de reação todas as soluções já tem cor amarela, sinalizando o completo consumo dos radicais DPPH nas soluções.

Após essa avaliação visual preliminar, é possível prever quais as redoxomas que terão a maior velocidade de consumo do DPPH•. As FIGURAS 39 a 56 apresentam o resultado da primeira avaliação realizada em UV-Vis. O pico ilustrado nessas figuras representa a região da redução da absorbância do DPPH.

As soluções das demais redoxomas começam a clarear, atingindo o mesmo tom da redoxoma 10, na foto referente à uma hora de reação. Entre 18 e 24 horas não é possível perceber mudanças significativas, e com 42 horas de reação todas as soluções já tem cor amarela, sinalizando o completo consumo dos radicais DPPH nas soluções.

Classificando as redoxomas de acordo com a sua eficiência no consumo do DPPH• nos testes em UV-Vis, no intervalo de tempo medido, utilizando-se como critério a porcentagem na redução do sinal inicial do DPPH, as mais eficientes foram as redoxomas 01 (FIGURA 39), 17 (FIGURA 54), 18 (FIGURA 55) e 19 (FIGURA 56), visto que conseguiram reduzir a absorbância do DPPH• em mais de 80% da sua intensidade inicial, sendo que as redoxomas 17 e 18 levaram 25 e 20 minutos,

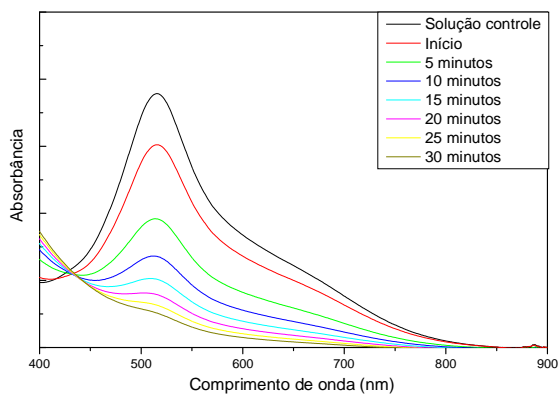


FIGURA 39 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 01 NA PRESENÇA DE DPPH

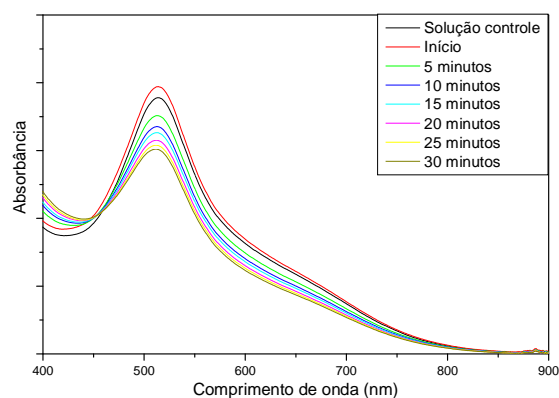


FIGURA 42 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 05 NA PRESENÇA DE DPPH

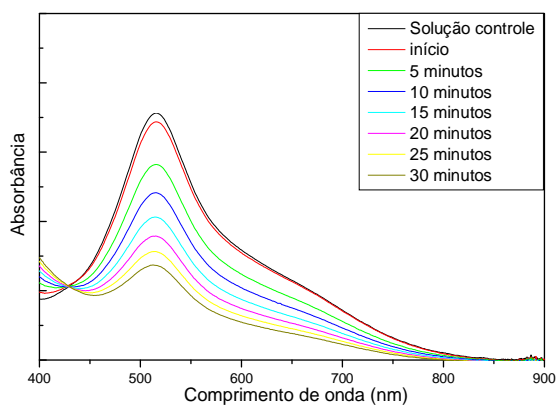


FIGURA 40 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA02 NA PRESENÇA DE DPPH

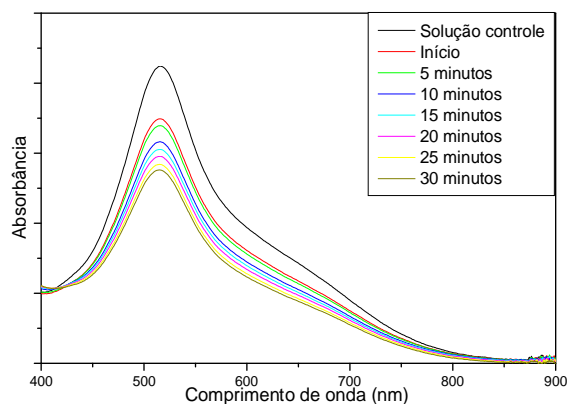


FIGURA 43 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 06 NA PRESENÇA DE DPPH

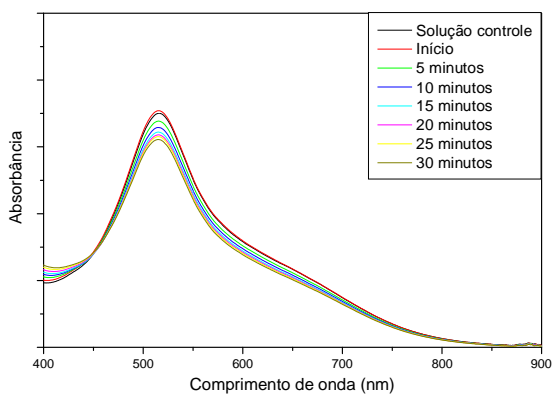


FIGURA 41 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA04 NA PRESENÇA DE DPPH

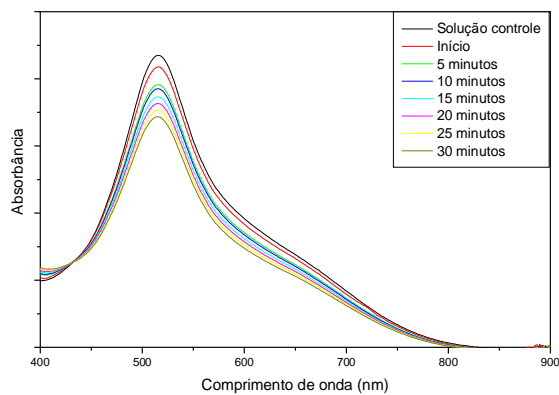


FIGURA 44 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 07 NA PRESENÇA DE DPPH

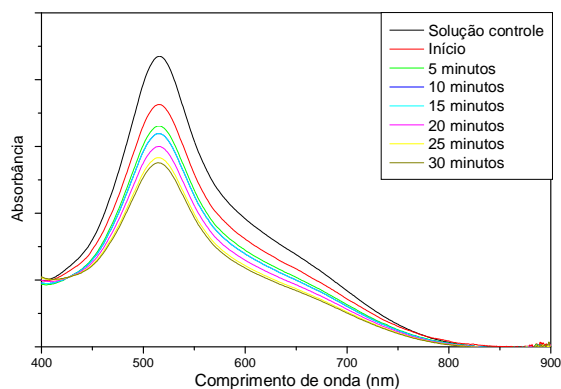


FIGURA 45 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 08 NA PRESENÇA DE DPPH

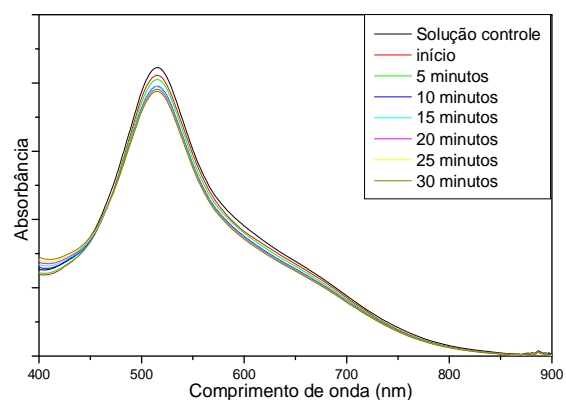


FIGURA 48 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 11 NA PRESENÇA DE DPPH

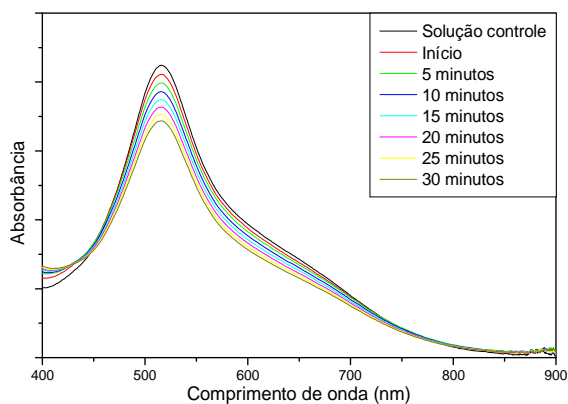


FIGURA 46 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 09 NA PRESENÇA DE DPPH

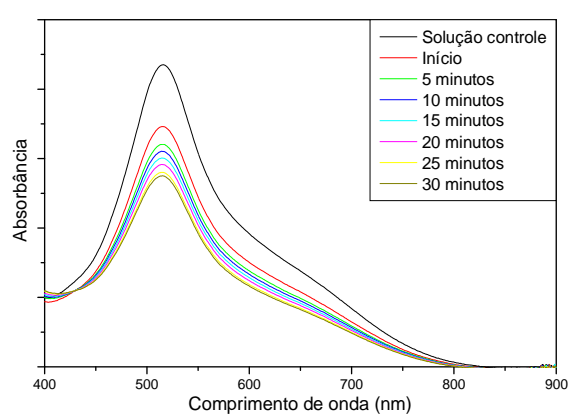


FIGURA 49 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 12 NA PRESENÇA DE DPPH

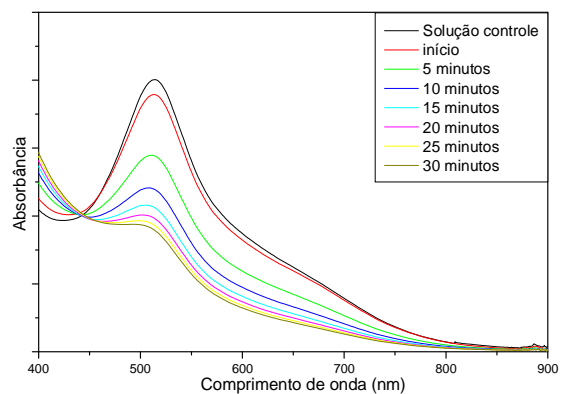


FIGURA 47 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 10 NA PRESENÇA DE DPPH

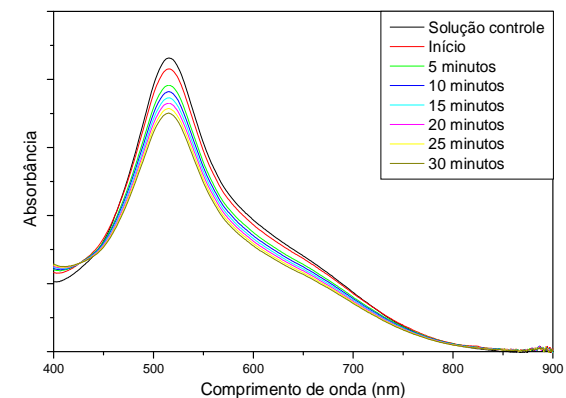


FIGURA 50 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 13 NA PRESENÇA DE DPPH

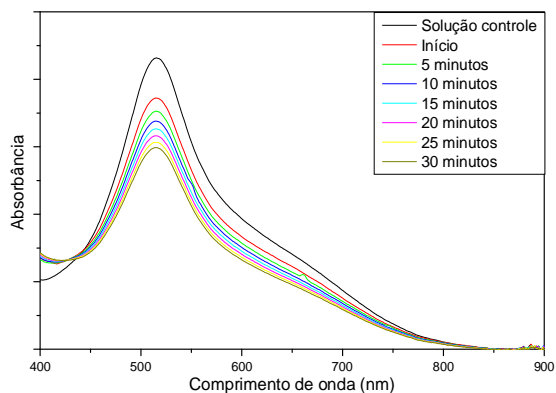


FIGURA 51 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 14 NA PRESENÇA DE DPPH

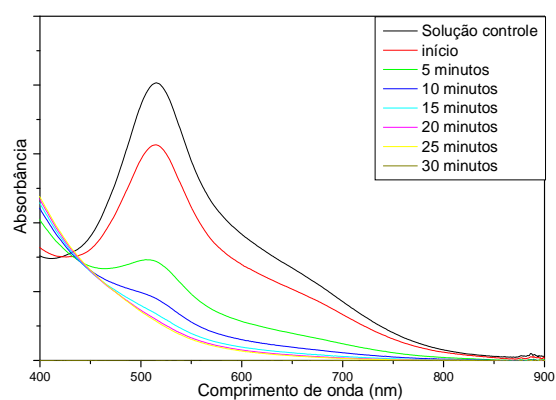


FIGURA 54 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 17 NA PRESENÇA DE DPPH

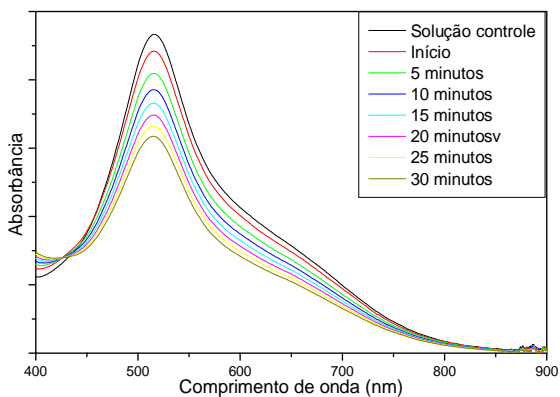


FIGURA 52 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 15 NA PRESENÇA DE DPPH

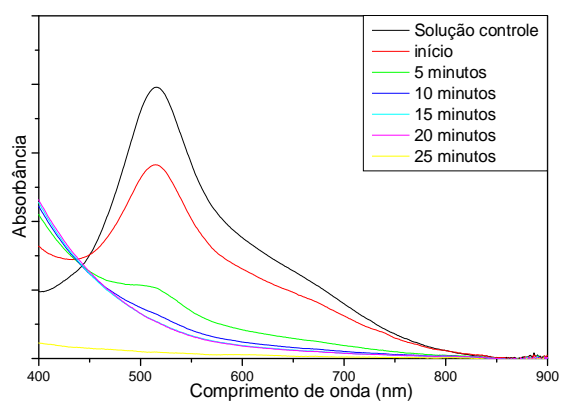


FIGURA 55 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 18 NA PRESENÇA DE DPPH

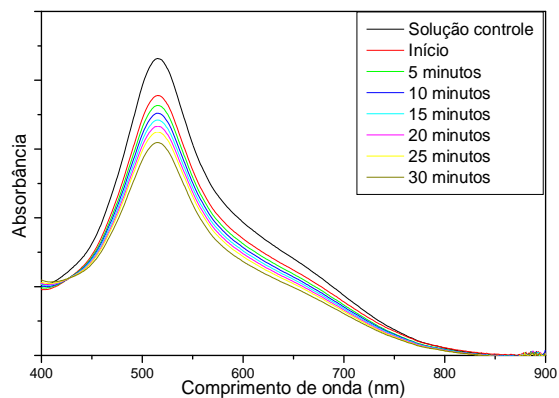


FIGURA 53 - ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 16 NA PRESENÇA DE DPPH

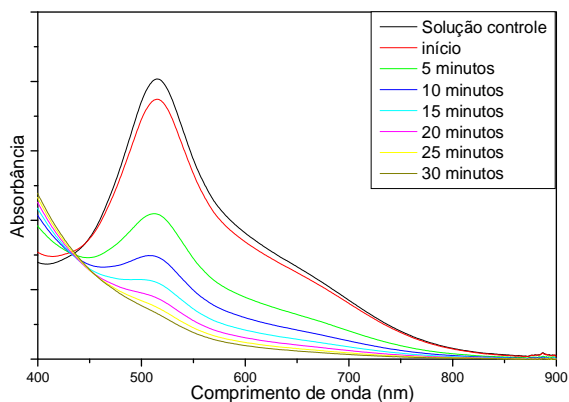


FIGURA 56- ESPECTRO EM UV-VIS DA REDOXOMA 19 NA PRESENÇA DE DPPH

respectivamente, para atingir esses valores e se estabilizarem. Apenas essas quatro redoxomas conseguiram eliminar por completo o pico de absorbância em 515nm, característico do DPPH•. As redoxomas 02 (FIGURA 40) e 10 (FIGURA 47) também se mostraram eficientes no consumo do DPPH•, apesar de não o terem consumido totalmente no intervalo de tempo analisado, com um consumo de 60% e 53%, respectivamente.

As redoxomas 15 (FIGURA 52), 08 (FIGURA 45) e 05 (FIGURA 42) tiveram um rendimento menos eficiente, entre 25 e 30%, logo seguidas pelas redoxomas 06 (FIGURA 43), 12 (FIGURA 49), 14 (FIGURA 51), 07 (FIGURA 44), 09 (FIGURA 46) e 16 (FIGURA 53) com rendimentos em torno dos 20%.

As demais redoxomas se mostraram pouco eficientes no consumo do DPPH• no teste em UV-Vis (rendimentos abaixo de 15%), mas ainda assim apresentaram atividade antioxidante. Colocando-as em ordem de maior para menor eficiência, tem-se a seguinte ordem: 13 (FIGURA 50), 04 (FIGURA 41) e 11 (FIGURA 48). Nota-se uma discrepância na eficiência no consumo do DPPH• pela redoxoma 11 nos espectros em EPR e em UV-Vis, podendo ter sido causada pela sensibilidade do método de EPR, e/ou devido às quantidades utilizadas na preparação das soluções serem muito pequenas, o que faz com que uma pequena diferença na quantidade pesada, gere uma grande diferença no resultado final.

Ressalte-se que, conforme ocorreu com os estudos por espectroscopia de EPR, a maior eficiência nos testes por espectrofotometria de UV-Vis foi das redoxomas que apresentam a hidroxila na cadeia cíclica principal, o que reforça a ideia de que ela pode estar atuando como um doador de H•, melhorando, por isso, a capacidade antioxidante dessas redoxomas.

O método do DPPH [65] foi aplicado apenas para as redoxomas 01, 02, 19, 18, 17, pois foram as que obtiveram os melhores resultados tanto no teste em EPR quanto na avaliação preliminar em UV-Vis.

A curva de calibração obtida para o DPPH e utilizada nos cálculos da capacidade antioxidante das redoxomas é apresentada na equação (9) e na FIGURA 57, para concentração mg/mL. O valor de R² obtido para a curva foi de 0,99993.

$$\text{Absorbância} = 0,00291 + 36,6533 \cdot C_{\text{DPPH}} \quad (9)$$

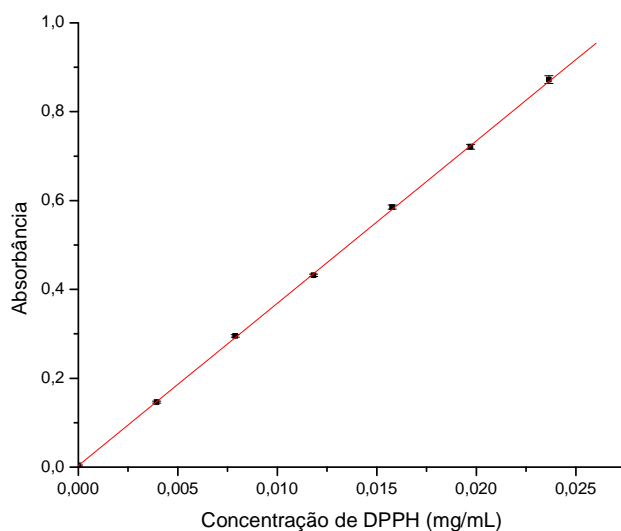


FIGURA 57 - CURVA DE CALIBRAÇÃO DO DPPH

No teste que visa analisar a cinética de reação entre as redoxomas e o DPPH (FIGURA 58 e TABELA 7), percebeu-se que o comportamento das redoxomas 17, 18 e 19 é bem parecido, todas elas atingem a estabilidade com 50 minutos de reação, o que não é de se estranhar, visto que suas estruturas são muito parecidas. Já as redoxomas 01 e 02, também muito parecidas entre si estruturalmente, apresentaram comportamentos distintos. A redoxoma 01 estabilizou-se com 90 minutos de reação e a

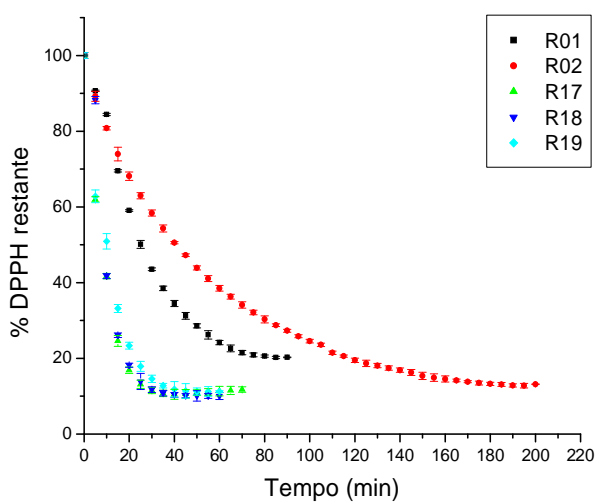


FIGURA 58 - COMPORTAMENTO CINÉTICO DAS REDOXOMAS ANALISADO POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS

TABELA 7 - PERCENTUAL DE DPPH RESTANTE E DESVIO PADRÃO PARA AS MISTURAS REDOXOMA/DPPH NO TESTE EM UV-VIS

Tempo (min)	R01	DP R01	R02	DP R02	R17	DP R17	R18	DP R18	R19	DP R19
0	100,00	0,18	100,00	0,74	100,00	0,74	100,00	0,74	100,00	0,74
5	90,66	0,18	89,24	1,32	61,98	0,71	88,21	0,96	62,80	1,69
10	84,42	0,31	80,79	0,44	41,74	0,73	41,74	0,65	50,90	2,03
15	69,54	0,31	73,98	1,82	24,60	1,45	26,12	0,60	33,19	1,05
20	59,07	0,22	68,12	1,13	16,89	0,83	18,21	0,54	23,36	0,89
25	50,12	1,04	62,97	0,81	13,17	1,08	13,88	2,12	17,89	1,34
30	43,52	0,38	58,39	0,80	11,53	0,84	11,75	0,74	14,59	0,98
35	38,48	0,61	54,31	0,95	10,75	0,83	10,79	0,73	12,78	0,61
40	34,50	0,84	50,55	0,32	10,50	1,33	10,36	0,63	11,82	2,06
45	31,24	0,90	47,25	0,35	10,61	1,15	10,15	0,57	11,39	1,92
50	28,57	0,56	43,91	0,54	10,97	0,75	10,08	1,36	11,25	0,93
55	26,23	1,11	41,07	0,80	11,14	0,86	10,08	0,66	11,25	1,27
60	24,17	0,54	38,51	0,75	11,32	1,26	10,04	0,93	11,25	0,25
65	22,65	0,92	36,31	0,62	11,53	1,07				
70	21,51	0,58	34,11	0,83	11,78	0,71				
75	20,91	0,50	32,12	0,58						
80	20,59	0,28	30,31	0,92						
85	20,23	0,31	28,75	0,35						
90	20,27	0,08	27,30	0,39						
95			25,84	0,39						
100			24,56	0,51						
105			23,57	0,46						
110			21,47	0,43						
115			20,59	0,32						
120			19,49	0,59						
125			18,67	0,84						
130			18,10	0,55						
135			17,43	0,56						
140			16,89	0,59						
145			16,29	0,79						
150			15,37	0,98						
155			14,91	0,99						
160			14,55	0,81						
165			14,16	0,36						
170			13,84	0,29						
175			13,49	0,52						
180			13,27	0,43						
185			13,10	0,51						
190			12,85	0,41						
195			12,78	0,59						
200			13,17	0,05						

redoxoma 02 necessitou do dobro do tempo, 180 minutos. A pequena diferença estrutural, porém muito significativa, entre essas duas redoxomas é a presença de uma hidroxila na redoxoma 01 e ela se mostra muito mais importante do que a diferença entre as redoxomas 17, 18 e 19, o que corrobora com o que foi explicado anteriormente, de que há a possibilidade de que a presença da hidroxila aumente a capacidade antioxidante do composto.

De acordo com a classificação elaborada por Brand Willians [64], as redoxomas 17, 18 e 19 apresentam uma cinética de reação intermediária, já as redoxomas 01 e 02 apresentam uma cinética de reação lenta, necessitando de mais de uma hora para a sua estabilização.

O resultado da atividade antioxidante em relação ao radical DPPH está demonstrado de duas maneiras na TABELA 8, através do poder antirradical e como IC₅₀ - concentração capaz de inibir 50% do DPPH.

TABELA 8 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS REDOXOMAS EM RELAÇÃO AO DPPH		
Redoxoma	IC ₅₀ - µg/mL	Poder antirradical - mL/µg
01	10,15	0,10
02	41,46	0,02
17	5,65	0,18
18	0,09	11,45
19	0,50	2,02

Na medida de IC₅₀, que expressa a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, os valores obtidos foram de 10,15 µg/mL para a redoxoma 01; 41,46 µg/mL para a redoxoma 02 e 5,65 µg/mL, 0,09 µg/mL e 0,50 µg/mL para a redoxoma 17, 18 e 19, respectivamente, o que significa que serão necessários 10,15 µg/mL da redoxoma 01 para a redução de 50% do DPPH, enquanto que para as redoxomas 17, 18 e 19, apenas 5,65 µg/mL, 0,09 µg/mL e 0,50 µg/mL, respectivamente, para que aconteça a mesma redução do radical e portanto uma atividade antioxidante maior que para a redoxoma 01, já testada como antioxidante para biodiesel e uma substância referência bastante utilizada nas análises de atividade antioxidante [72].

4.3 TESTE RANCIMAT

Os resultados obtidos no primeiro teste em Rancimat mostraram que todas as quatro redoxomas testadas aumentaram o tempo de estabilidade oxidativa da amostra de biodiesel, indicando que todas possuem atividade antioxidante, o que confere com os resultados obtidos nos testes anteriores em EPR e UV-Vis.

Nota-se que nas amostras aditivadas apenas com as redoxomas, houve uma diminuição do tempo de estabilidade oxidativa (EO), comparado ao biodiesel puro, em torno de 17 a 23% de redução (FIGURA 59). Nesse caso a redoxoma atuou como agente pró-oxidante, levando à formação de radicais livres. Isto pode ter acontecido devido a problemas de solubilidade da redoxoma no meio, fato que não ocorre quando ela é misturada primeiramente ao BDEA para então ser adicionada ao biodiesel. Nesses casos houve um aumento considerável no tempo de estabilidade oxidativa no primeiro dia após a aditivação, principalmente para as misturas tempol/BDEA, R19/BDEA e R17/BDEA (52%, 44% e 40% de aumento, respectivamente).

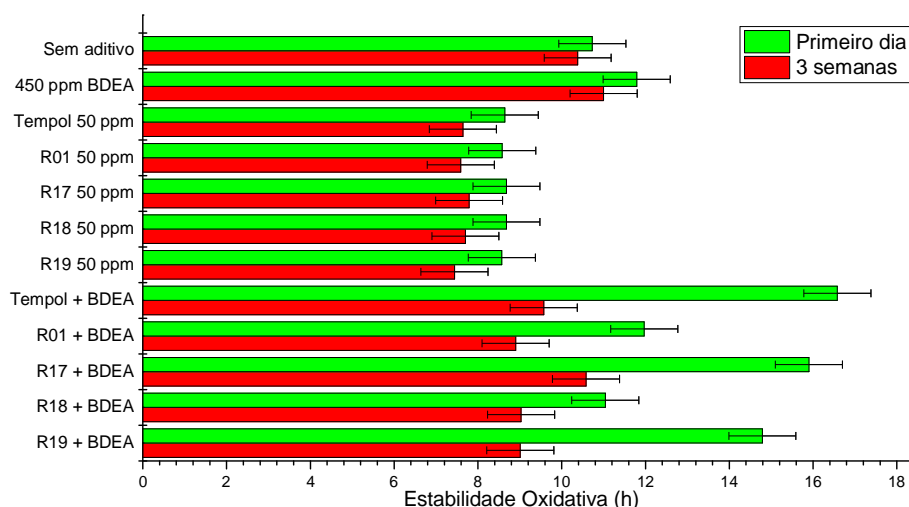


FIGURA 59 - RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BODIESEL ADITIVADO COM AS REDOXOMAS. AS BARRAS FINAS REPRESENTAM O ERRO DO PROCEDIMENTO.

Entretanto, apesar do aumento da EO no primeiro dia, após 3 semanas é percebida uma diminuição desse valor. Para as amostras em que foram adicionadas as redoxomas puras, essa redução após 3 semanas foi de 10 a 12%. Já para as misturas BDEA/redoxoma essa redução foi bem maior, enquanto que a EO do biodiesel sem

aditivos praticamente não sofreu variação. Para a mistura BDEA/redoxoma 17, a que obteve o melhor resultado no primeiro dia, a redução foi uma das maiores (33%), mas ainda assim, o valor da EO após as 3 semanas era o maior dentre todas as misturas BDEA/redoxoma. No caso da mistura BDEA/redoxoma 19, a redução foi a maior entre todas as misturas, 39%, sendo o valor da EO após as 3 semanas, o mesmo que para a mistura BDEA/redoxoma 18 (9,03 e 9,01 h, respectivamente), que na primeira medida obteve um resultado 25% menor. Essa diferença pode ter relação com a estrutura de cada redoxoma, mas também é possível que seja devido à quantidade adicionada ao biodiesel, que pode ter tido uma pequena variação devido à dificuldade na pesagem da quantidade de redoxoma a ser adicionada, pois era um valor extremamente pequeno.

O comportamento da EO ao longo do tempo foi analisado apenas após 3 semanas da adição da mistura ao biodiesel, portanto não é possível dizer que ela se estabiliza ou não após certo tempo, para isso seria necessária uma avaliação das misturas por mais semanas consecutivas.

No teste feito para comparar a redoxoma 01 e o tempol, substâncias com a mesma estrutura química, mas de diferentes procedências, o tempo de estabilidade oxidativa obtido foi diferente, para a mistura tempol/BDEA foi cinco vezes superior ao da mistura R01/BDEA. Essa grande diferença é explicada pela presença de água na redoxoma 01, proveniente do processo de síntese. Durante o preparo das soluções foi possível perceber essa diferença, enquanto os cristais do tempol comercial estavam bem soltos, os cristais da redoxoma 01 estavam unidos, demonstrando sinais de umidade, como pode ser visto na FIGURA 60.

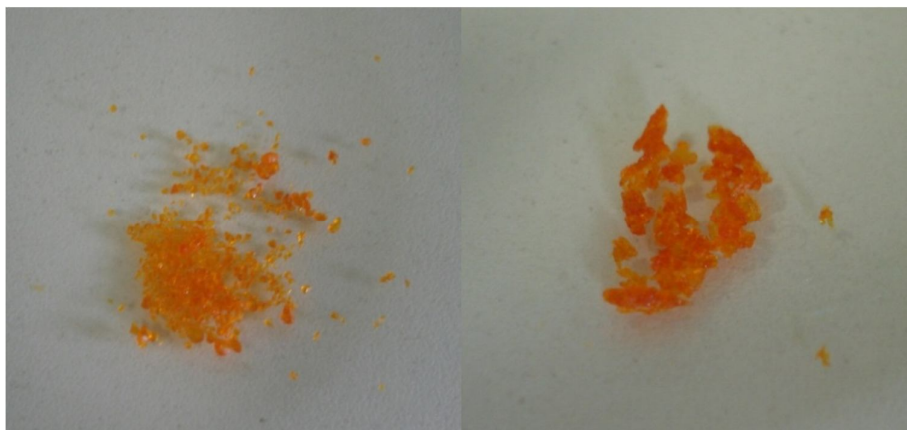


FIGURA 60 - TEMPOL COMERCIAL (À ESQUERDA) E REDOXOMA 01 (À DIREITA)

Em um dos ensaios, redoxoma e BDEA foram adicionados separadamente, para avaliar a influência da mistura BDEA/redoxoma, o que resultou num decréscimo do tempo de EO do biodiesel (FIGURA 61). Isso mostra a importância do BDEA na solução, pois ele melhora a solubilidade da redoxoma no biodiesel, melhorando também a sua capacidade antioxidante. Pelos resultados obtidos percebe-se que o BDEA também apresenta atividade antioxidante, pois ao ser adicionado puro ao biodiesel, provocou um pequeno aumento da EO, entretanto, ao ser adicionado junto de uma redoxoma, mostrou um aumento muito maior. Nesse caso, o BDEA e a redoxoma atuam como sinergistas.

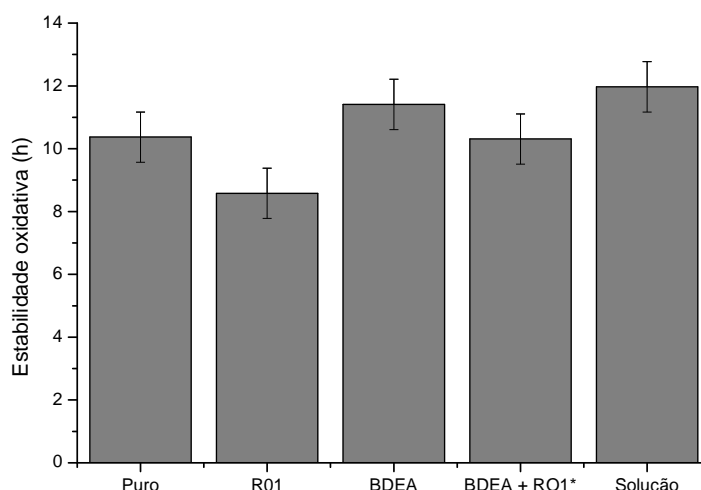


FIGURA 61 - TEMPO DE ESTABILIDADE OXIDATIVA PARA O BIODIESEL PURO (PURO), ADITIVADO COM 50 PPM DA REDOXOMA 01 (R01), 450 PPM DE BDEA (BDEA), 475 PPM DE BDEA E 25 PPM DA REDOXOMA 01 ADICIONADOS SEPARADAMENTE (BDEA + R01*) E COM UMA SOLUÇÃO DE 475 PPM DE BDEA E 25 PPM DE REDOXOMA 01 (SOLUÇÃO). AS LINHAS FINAS SOBRE AS BARRAS REPRESENTAM O ERRO RELATIVO AO PROCEDIMENTO.

Ao fornecer o valor da EO, o programa do Rancimat mostra um gráfico que ilustra o aumento da condutividade na célula de medida ao longo do tempo. A condutividade é proporcional à concentração de íons H^+ na solução de medição e vai aumentando aos poucos devido à presença de ácidos orgânicos voláteis formados devido à quebra das insaturações dos ácidos graxos do biodiesel. Esse foi o comportamento da condutividade em todos os gráficos gerados para o biodiesel sem aditivos, como ilustra a FIGURA 62.

Todavia, o gráfico gerado para as amostras de biodiesel aditivado com BDEA (pura ou em solução com as redoxomas) apresentou uma peculiaridade. No começo do

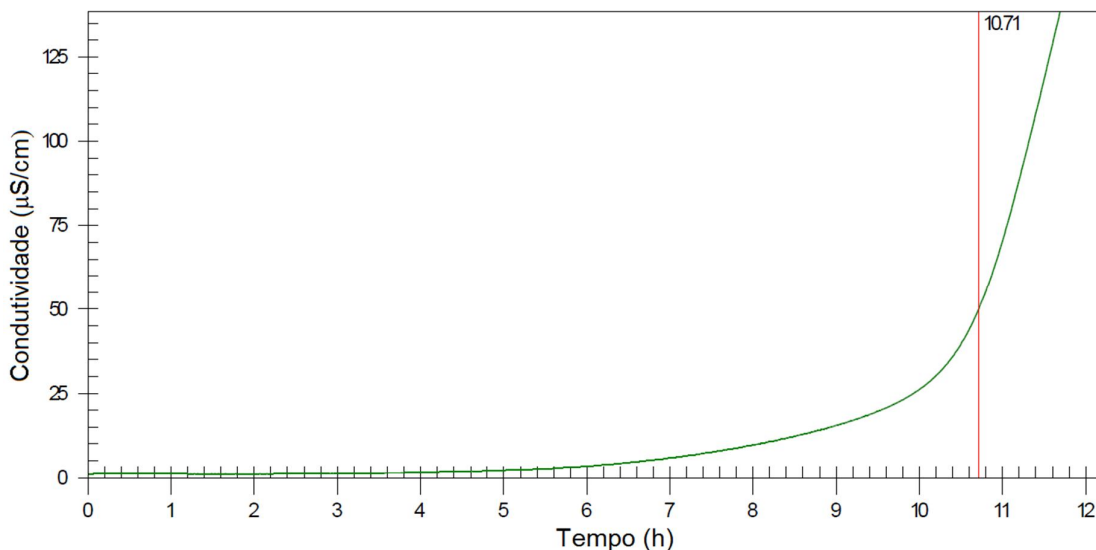


FIGURA 62-CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL SEM ADITIVOS

processo de oxidação houve uma diminuição da condutividade, como pode ser visto na FIGURA 63, provavelmente devido ao BDEA e a sua estrutura química (FIGURA 64). Como o nitrogênio é menos eletronegativo que o oxigênio, as ligações N-H apresentam-se menos polares que as ligações O-H (presentes nos álcoois e ácidos carboxílicos). Por essa razão, as aminas formam ligações de hidrogênio mais fracas que os álcoois com pesos moleculares semelhantes. Como as ligações são mais

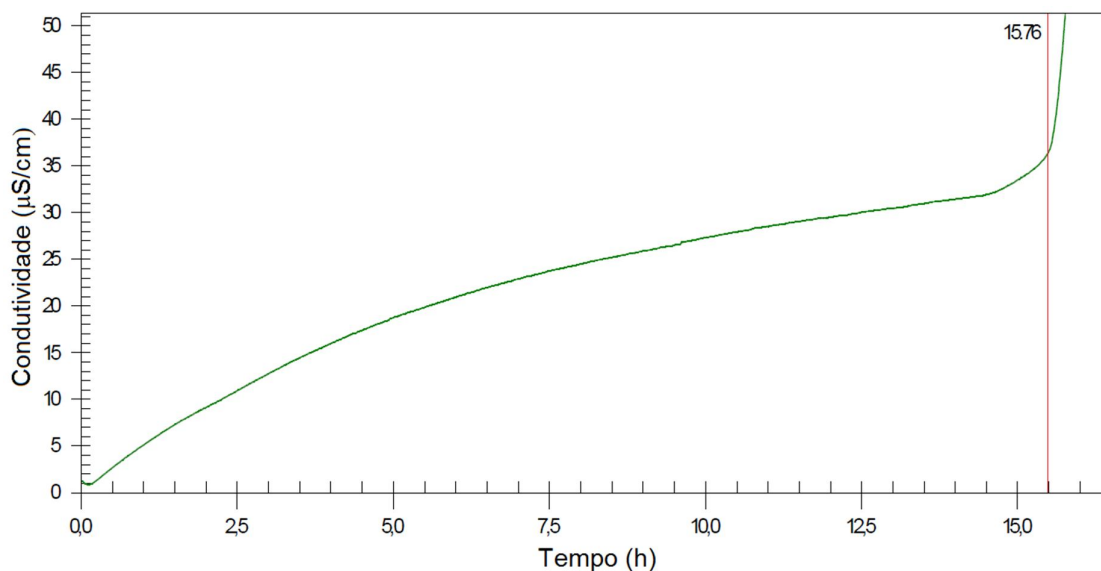


FIGURA 63 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM A SOLUÇÃO BDEA/REDOXOMA 17

fracas, compreende-se que os pontos de ebulição das aminas também sejam mais baixos, então, com o aquecimento da amostra, as ligações do BDEA são quebradas, liberando as aminas que são arrastadas para a solução de medida, onde elas reagem com os H^+ disponíveis, diminuindo a condutividade. Aumentando a temperatura, há o desprendimento de outros compostos que ao atingirem a solução na célula de medição provocam a liberação de mais H^+ na água, aumentando a sua condutividade. Ao restabelecer o equilíbrio de íons na solução de medida, a condutividade volta ao seu valor inicial e passa a aumentar gradativamente até que ocorra a formação dos ácidos orgânicos voláteis, que provocam o rápido aumento da condutividade, caracterizando o ponto onde é definido o período de indução.

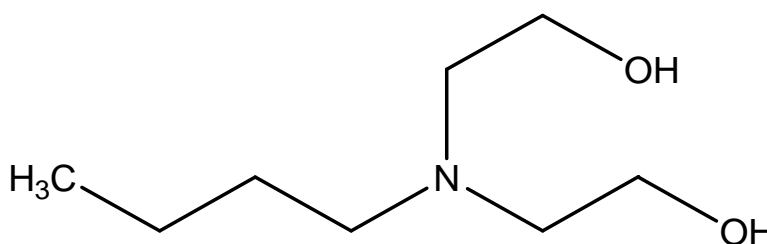


FIGURA 64 - ESTRUTURA QUÍMICA DO BDEA

A segunda bateria de testes no Rancimat visou avaliar o efeito da concentração das redoxomas e do BDEA na EO do biodiesel, o resultado é ilustrado na FIGURA 65.

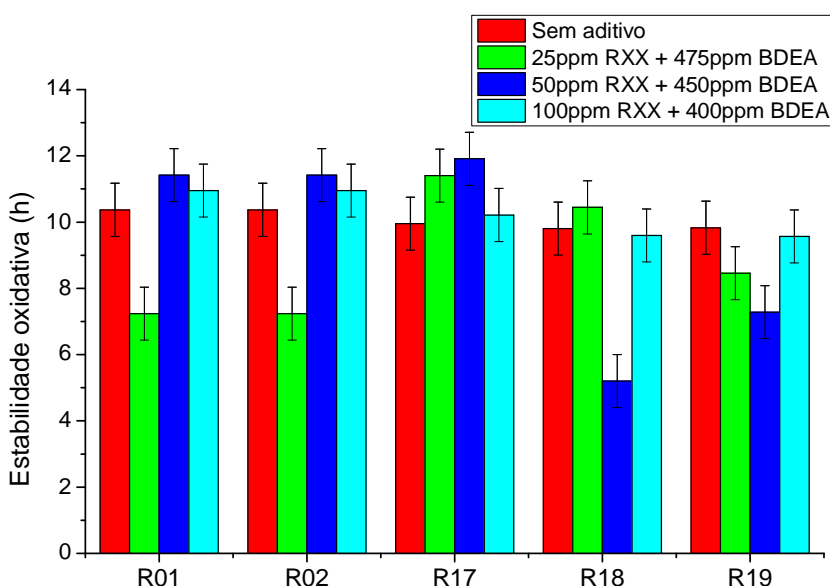


FIGURA 65 - AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA REDOXOMA E DO BDEA NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL

Nota-se que para as redoxomas 01, 02 e 17, a concentração intermediária (50 ppm de redoxoma e 450 ppm de BDEA) é a que proporciona a maior EO, e o oposto ocorre para as redoxomas 18 e 19, onde essa concentração é a pior, com um valor inclusive abaixo do valor obtido para a amostra sem aditivo. No caso da redoxoma 18, o melhor valor obtido foi para a menor concentração de redoxoma e maior concentração de BDEA. Já para a redoxoma 19 ocorreu o inverso, o maior valor de EO foi para a amostra aditivada com a maior concentração de redoxoma, apesar de ainda ser menor do que o valor para a amostra de biodiesel puro.

5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

5.1 CONCLUSÕES

O objetivo desse trabalho foi atingido, avaliar a viabilidade do uso das redoxomas como antioxidantes para biodiesel, além de utilizar-se da técnica de espectroscopia de EPR como uma nova forma na identificação de compostos com atividade antioxidante.

A técnica de espectroscopia de EPR mostrou-se eficiente para a determinação de compostos antioxidantes, uma vez que os resultados obtidos através desta técnica estavam em concordância com os resultados obtidos através do método tipicamente utilizado para esse fim, a espectroscopia de UV-Vis.

Aplicar a técnica de espectroscopia de EPR na avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel, assim como utilizar-se dessa técnica para melhor estudar os processos oxidativos que ocorrem neste tipo de biocombustível foi um avanço importante.

Os espectros de EPR mostraram que as redoxomas não perdem a sua atividade antioxidante após reagirem com o DPPH, uma vez que o sinal do seu espectro não some, ao contrário do sinal do DPPH que é totalmente eliminado após um período.

Todos os compostos testados apresentaram atividade antioxidante, alguns com uma velocidade de consumo do DPPH• mais altas que outros. Além disso, algumas redoxomas, apesar de uma alta velocidade de reação, mostraram um consumo percentual baixo de DPPH•, sendo que as redoxomas que apresentaram os melhores resultados nos testes de avaliação de atividade antioxidante, em relação à velocidade de reação e ao consumo percentual do DPPH•, foram as redoxomas 01, 17, 18 e 19.

Ambos os testes, em EPR e UV-Vis, mostraram que a estrutura do composto é muito importante no que diz respeito a sua atividade antioxidante, visto que as redoxomas com melhores resultados possuem estruturas similares e muitos pontos em comum, como a presença de uma hidroxila presa à cadeia heterocíclica principal.

Os testes da avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel, realizados no equipamento Rancimat, comprovaram que esses compostos podem ser utilizados como antioxidantes para biodiesel.

A presença do composto BDEA mostrou-se de fundamental importância, uma vez que ele é responsável por melhorar a solubilidade da redoxoma no biodiesel, atuando com efeito sinérgico.

5.2 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

Padronizar um método utilizando a técnica de EPR para a avaliação da atividade antioxidante de um composto, assim como uma maneira de quantificar essa atividade em amostras de biodiesel.

Determinar a relação ideal entre a quantidade de redoxoma e BDEA, assim como testar as redoxomas com outras etanolaminas para verificar qual a sua real influência no processo.

Estudar mais a fundo o mecanismo de reação entre a mistura redoxoma/BDEA e o biodiesel e também analisar o biodiesel aditivado após o teste no Rancimat para a identificação dos compostos gerados durante a sua oxidação, assim como a solução aquosa da célula de medição.

Realizar um teste mais apurado em relação ao tempo, observando o comportamento do biodiesel aditivado por um período de tempo mais longo.

Testar a sinergia entre as redoxomas, observando o comportamento da atividade antioxidante do biodiesel ao ser aditivado com duas ou mais redoxomas ao mesmo tempo.

Avaliar a influência das redoxomas nos outros parâmetros de qualidade do biodiesel.

REFERÊNCIAS

- 1 MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.
- 2 SANTOS, V. M. L. *et al.* Thermochemistry of biodiesel oxidation reactions: a DFT study. **Fuel**, v.90, p. 811-817, 2011.
- 3 LAPUERTA, M. *et al.* Effect of the test temperature and anti-oxidant addition on the oxidation stability of commercial biodiesel fuels. **Fuel**, v. 93, p. 391-396, 2012.
- 4 KUCEK, K. T. **Otimização da transesterificação etílica do óleo de soja em meio alcalino**. 107 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, 2004.
- 5 RESOLUÇÃO ANP Nº 7, DE 19.3.2008 - DOU 20.3.2008. Disponível em:<<http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em 06/02/2012.
- 6 RODRIGUES FILHO, M. G. **Cardanol e Eugenol Modificados - Uso como antioxidantes no controle do processo oxidativo do biodiesel etílico de algodão**. 122 p. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- 7 DUNN, R. O. Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. **Biofuels, Bioproducts & Biorefining**, v. 2, p. 304-318, 2008.
- 8 JERZYKIEWICZ, M. *et al.* EPR spin trapping and DFT studies on structure of active antioxidants in bioglycerol. **Chemical Physics Letters**, v. 497, p. 135-141, 2010.
- 9 JERZYKIEWICZ, M.; CWIELAGA-PIASECKA, I. The antioxidant and anticorrosive properties of crude glycerol fraction from biodiesel production. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, p. 1196–1201, 2009.
- 10 BIODIESEL HANDLING AND USE GUIDE, 4. Ed. National Renewable Energy Laboratory, 2011.
- 11 KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The biodiesel handbook**. Illinois, AOCS Press, 2004.
- 12 KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, v. 88, p. 669-667, 2007.
- 13 WAYNICK, J. A. **Characterization of biodiesel oxidation and oxidation products**. 51 p. 2005. Revisão da Literatura Técnica.
- 14 MOHAMMED, M. H.*et al.* Experimental study of the oxidation of large surrogates for diesel and biodiesel fuels. **Combustion and Flame**, v. 156, p. 2129-2144, 2009.

15 GOMIDE, R. B. **Biodiesel no Brasil**, Ministério de Minas e Energia, São Paulo, 2011.

16 EXPERIÊNCIA de Curitiba incentiva desenvolvimento do biodiesel no país. Disponível em: <<http://www.curitiba.pr.gov.br/noticias/experiencia-de-curitiba-incentiva-desenvolvimento-do-biodiesel-no-pais/26424>>. Acesso em: 17/04/2012.

17 U.S.ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Assessment and Standards Division - Office of Transportation and Air Quality. **Renewable Fuel Standard Program (RFS2) Regulatory Impact Analysis**. 2010. Disponível em: <<http://www.epa.gov/nscep/index.html>>. Acesso em: 10/04/2012.

18 KARAVALLAKIS, G.; STOURNAS, S.; KARONIS, D. Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. **Fuel**, v. 89, p. 2483-2489, 2010.

19 IUPAC Compendium of Chemical Terminology. International Union of Pure and Applied Chemistry, 1997. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/F02330.html>>. Acesso em: 02/04/2012.

20 FOCKE, W. W. *et al.* The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. **Fuel**, v 94, p. 227-233, 2012.

21 BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.30, n.6, p.609–615, 1997.

22 KARAVALLAKIS, G. *et al.* Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants. **Energy**, v. 36, p. 369-374, 2011.

23 WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: science, technology and applications. In: SHAHIDI, F. **Bailey's industrial oil and fat products**, 6.ed.New York: John Wiley, 2005, v. 1, p. 431-476.

24 COWAN, J. C. **Encyclopedia of Chemical Technology**. 3 ed. v. 8, pp.130-150, New York: Wiley-Interscience, 1979.

25 CAREY, F. A. **Organic Chemistry**. New York: McGraw-Hill, 1987.

26 COWAN, J.C. Polymerization, Copolymerization, and Isomerization. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 31, p. 529-535, 1954.

27 DAS, L. M. *et al.* Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil. **Fuel**, v. 88, p. 2315-2318, 2009.

28 HOSHINO, T.; IWARA, Y.; KOSEKI, H., Oxidation stability and risk evaluation of biodiesel. **Thermal Science**, v. 11, n. 2, p. 87-100, 2007.

29 KOBORI, C.N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Revista Ciência Agrotécnica**, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

- 30 PEREIRA, F. E. de A. **Biodiesel produzido a partir do óleo de sementes de *Mabea fistulifera* Mart.** 87 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- 31 KNOTHE, G.; DUNN, R.O., Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 80, n. 1, p. 1021-1026, 2003.
- 32 FERRARI, R.A.; OLIVEIRA, V.D.; SCABIO, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters. **Scientia Agricola**, v.62, n. 3, p. 291-295, 2005.
- 33 FERRARI, R.A.; SOUZA, W.L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 106-111, 2009.
- 34 CHEN, Y.; LUO, Y. Oxidation stability of biodiesel derived from free fatty acids associated with kinetics of antioxidants. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 1387-1393, 2011.
- 35 USTA N.et al. Properties and quality verification of biodiesel produced from tobacco seed oil. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 2031-2039, 2011.
- 36 MARIOD, A.et al. Improving the oxidation stability of sunflower oil by blending with *Sclerocarya birrea* and *Aspongopus vidatus* oils. **Journal of Food Lipids**, v. 12, p. 150-158, 2005.
- 37 KIVEVELE, T. T. et al. Impact of antioxidant additives on the oxidation stability of biodiesel produced from Croton *Megalocarpus* oil. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 1244-1248, 2011.
- 38 LOMONACO, D., et al. Thermal studies of new biodiesel antioxidants synthesized from a natural occurring phenolic lipid. **Fuel**, 2012.
- 39 MOSER, B. M. Efficacy of gossypol as an antioxidant additive in biodiesel. **Renewable Energy**, v. 40, p. 65-70, 2012.
- 40 SARIN, R. et al. Biodiesel surrogates: achieving performance demands. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3022-3028, 2009.
- 41 SANTOS, A. B. et al. Antioxidant properties of plant extracts: an EPR and DFT comparative study of the reaction with DPPH, TEMPOL and spin trap DMPO. **Journal of Brazilian Chemical Society**, Vol. 20, n. 8, p. 1483-1492, 2009.
- 42 GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: HUDSON, B. J. F. **Food antioxidants**. New York: Elsevier, 1990. p. 1-18.
- 43 ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

44 FRANKEL, E.N. Lipid oxidation. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.19, n.1-2, p.1-22, 1980.

45 RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

46 NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, p. 273-300, 1990.

47 DE PAOLI, M. A. **Degradação e Estabilização de Polímeros**. 2ª versão online (revisada) Editado por João Carlos Andrade. Campinas: Chemkeys, 2008. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com/blog/wp-content/uploads/2008/09/polimeros.pdf>>

48 LEONARDO, R. da S. **Estudo da estabilidade de biodiesel com misturas de antioxidantes por um método de P-DSC de baixa pressão**. 132p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

49 REVISTA FOOD INGREDIENTES BRASIL, n 06, p. 16-30, 2009.

50 HONORATO, S. B. **Efeito antioxidante de componentes do látex da seringueira e mangabeira sobre a degradação termo-oxidativa do Poli(1,4-cis-isopreno) sintético**. 93p. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

51 HUI, Y. H. Edible oil and fat products: specialty oils and oil products. In: SHAHIDI, F. **Bailey's industrial oil and fat products**, v. 3, 5 ed. New York: John Wiley, 1996.

52 BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1997.

53 FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v.57, n. p. 51-55, 1996.

54 SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDRA, P.D., Phenolic Antioxidants. **Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

55 REDA, S. Y. **Estudo comparativo de óleos vegetais submetidos a estresse térmico**.137p. Dissertação (Mestrado em Avaliação Tecnológica de Matérias-Primas) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2004.

56 GONDIM, A. D. **Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel de algodão e do efeito da adição de antioxidantes (α -tocoferol e BHT)**. 247f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

57 DANTAS, M. S. G. *et al.* **Avaliação oxidativa de derivados do β -Naftol aplicados a lubrificantes**. In: 4º PDPetro, Campinas, SP, 2007.

58 INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA (INCT Redoxoma). Disponível em: <http://www2.iq.usp.br/redoxoma>. Acesso em 18/01/2012.

59 RIEGER, P. H., **Electron spin resonance: analysis and interpretation**. Cambridge: RSC Publishing, 2007.

60 BARBERIS, G. E.; DONOSO, J. P. Descrição quântica de espectros de ressonância paramagnética eletrônica. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 19, n. 1, p. 125-135, 1997.

61 WEIL, J.A., BOLTON, J.R., WERTZ, J. E. **Electron paramagnetic resonance, elementary theory and practical applications**. New York: Wiley-Interscience, 1994.

62 ODOM, B., *et al.* New measurement of the electron magnetic moment using a one-electron quantum cyclotron. **Physical Review Letters**, v. 97, n. 3, 030801. P. 030801-1 – 030801-4, 2006.

63 BRAND-WILLIAMS, W.; CURVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie**, v.28, p. 25-30, 1995.

64 SANTOS, N. S.*et al.* **Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 5p. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/898412>> Acesso em: 25/01/2012. Comunicado Técnico.

65 NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 19, n. 2B, p. 553-556, 2009.

66 LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 182p. Tese (Doutorado) - Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

67 LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. da. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

68 SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F.M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

69 EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **EN 14112**: Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). [S.l.], 2003.

70 XIN, J.; IMAHARA, H.; SAKA, S. Kinetics on the oxidation of biodiesel stabilized with antioxidant. **Fuel**, v. 88, p. 282-286, 2009.

71 METROHN. **Determination of the oxidative stability of biodiesel (fatty acid methyl esters, FAME).** Disponível em <http://www.metrohm.com/export/Homepages/MetrohmAG/com/downloads/TP_Biodiesel.pdf>. Acesso em: 23/11/2011.

72 MARTYAK, N.; DOWLING, C.; GERNON, M. **Fatty ester compositions with improved oxidative stability.** W0 2010/023277 A1, 04 Mar. 2010.

73 HARRIS, R. K. *et al.* NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts. **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, n. 11, p. 1795-1818, 2001.

74 SANTOS, A. B. dos. **Atividade antioxidante de extratos vegetais da flora brasileira: Estudo com ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e teoria funcional da densidade (TFD).** 91p. Tese (Doutorado em Física Aplicada a Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2006.

ANEXO I

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	-	LII (1)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m³	850 a 900	7148 14065	1298 4052	EN ISO 3675 - EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm²/s	3,0 a 6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de água, máx.	mg/kg	(2)	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx.	mg/kg	24	-	-	EN ISO 12662 NBR 15995
Ponto de fulgor, mín. (3)	°C	100,0	14598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	EN 14103
Resíduo de carbono, máx. (4)	% massa	0,050	15586	4530	-
Cinzas sulfatadas, máx.	% massa	0,020	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	10	15867	5453	EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554 15555 15553 15556	-	EN 14108 EN 14109 EN 14538
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553 15556	-	EN 14538
Fósforo, máx.	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número Cetano (5)	-	Anotar	-	613 6890 (6)	EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	(7)	14747	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448 -	664 -	EN 14104 (8)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15341 (8) 15771	6584 (8) -	EN 14105 (8) EN 14106 (8)
Diácilglicerol, máx.	% massa	0,20	15342 (8) 15344 15908	6584 (8)	EN 14105 (8)
Triácilglicerol, máx.	% massa	0,20	15342 (8) 15344 15908	6584 (8)	EN 14105 (8)
Metanol e/ou Etanol, máx.	% massa	0,20	15343	-	EN 14110 (8)
Índice de Iodo	g/100g	Anotar	-	-	EN 14111 (8)
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín. (10)	h	6	-	-	EN 14112 EM 15751 (8)

Nota:(1) Límpido e isento de impurezas, com anotação da temperatura de ensaio.

(2) Será admitido o limite de 380 mg/kg 60 dias após a publicação da Resolução. A partir de 1º de janeiro de 2013 até 31 de dezembro de 2013 será admitido o limite máximo de 350 mg/kg e a partir de 1º de janeiro de 2014, o limite máximo será de 200 mg/kg.

(3) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C, fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.

(4) O resíduo deve ser avaliado em 100% da amostra.

(5) Estas características devem ser analisadas em conjunto com as demais constantes da tabela de especificação a cada trimestre civil. Os resultados devem ser enviados à ANP pelo Produtor de biodiesel, tomando uma amostra do biodiesel comercializado no trimestre e, em caso de neste período haver mudança de tipo de material graxo, o Produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de materiais graxos utilizados.

(6) O método ASTM D6890 poderá ser utilizado como método alternativo para determinação do número de cetano.

(7) Limites conforme Tabela II. Para os estados não contemplados na tabela o ponto de entupimento a frio permanecerá 19°C.

(8) Os métodos referenciados demandam validação para os materiais graxos não previstos no método e rota de produção etílica.

(9) Poderá ser determinado pelos métodos ABNT NBR 15908, ABNT NBR 15344, ASTM D6584 ou EN14105, sendo aplicável o limite de 0,25% em massa. Para biodiesel oriundo de material graxo predominantemente láurico, deve ser utilizado método ABNT NBR 15908 ou ABNT NBR 15344, sendo aplicável o limite de 0,30% em massa.

(10) O limite estabelecido deverá ser atendido em toda a cadeia de abastecimento do combustível.